



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **CARATERIZAÇÃO QUÍMICA E DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO ARANDO VERMELHO - "CRANBERRY"**

Trabalho submetido por  
**Bárbara de Oliveira Rosa**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**novembro de 2017**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **CARATERIZAÇÃO QUÍMICA E DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DO ARANDO VERMELHO - "CRANBERRY"**

Trabalho submetido por  
**Bárbara de Oliveira Rosa**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof.<sup>a</sup> Doutora Margarida Moncada**

**novembro de 2017**



## **Agradecimentos**

*Em primeiro lugar quero agradecer à minha família. Aos meus avós, Agripina e Aníbal, por todo o apoio, pelo conforto que me proporcionaram ao longo destes anos e, sem dúvida, por todo o amor que me dão dia após dia. À minha tia, Patrícia, pela ajuda que me prestou, pelo carinho e por se orgulhar de mim em todos os momentos. Ao meu pai, Pedro, por todo o apoio ao longo destes anos. À minha mãe, Marta, que sem ela nada disto seria possível. Com todo o amor sacrificou-se ao longo destes anos para me proporcionar um futuro melhor. À minha querida bisavó Fernanda, que mesmo não estando entre nós, nunca me deixou desistir.*

*Aos meus amigos de sempre, Catarina Martins, André Portela, Soraia Karmali, Vânia Silva, Tânia Costa e Dário Alexandre, que nunca me abandonaram ao longo destes anos, mesmo nos momentos de aperto. Ao meu amigo Rui Longo, por saber sempre o que dizer, pelas palavras de incentivo, por me fazer rir nos momentos de desespero e por estar sempre comigo. À minha mais recente amiga, Rita Mendonça, pela amizade e apoio que foram muito, mas mesmo muito importantes para mim.*

*Sem dúvida que este percurso não teria sido tão enriquecedor sem as minhas companheiras de curso. Marta Fernandes e Inês Lopes, obrigada por todas as partilhas e por fazerem de mim uma pessoa melhor. Jéssica Graça, obrigada pela ajuda, força e motivação que me deste nestes últimos tempos.*

*Por fim, quero agradecer à minha orientador Professora Doutora Margarida Moncada por toda a ajuda e disponibilidade prestada nesta fase.*

*A todos vós, um enorme obrigada!*



## Resumo

Para a elaboração da presente monografia realizou-se uma revisão bibliográfica com o intuito de analisar a composição química do arando vermelho, assim como os seus efeitos para a saúde.

A espécie de arando vermelho estudada, também conhecido como cranberry, foi *Vaccinium macrocarpon* Aiton, sendo esta uma baga predominantemente encontrada na América do Norte.

Os frutos de baga possuem um alto teor em fitoquímicos, o que lhes confere inúmeras propriedades com benefícios para a saúde. No decorrer desta análise constatou-se as suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas e antibacterianas, conferindo-lhe a capacidade preventiva de várias patologias.

Nesta monografia são abordados os mecanismos de ação deste fruto em relação à prevenção da síndrome metabólica e dos seus fatores de risco, da periodontite e cáries dentárias, de vários tipos de cancro e das infeções do trato urinário. As conclusões obtidas mostram que o cranberry é eficaz na prevenção e diminuição da progressão destas doenças.

Deste modo, constata-se que o consumo de cranberry proporciona vários benefícios para a saúde, sendo uma potencial estratégia no combate de certas patologias.

**Palavras-chave:** Arando vermelho, *Vaccinium macrocarpon*, compostos bioativos, efeitos na saúde.





## **Abstract**

The methodology adopted in this monography is based on a bibliographical review whose aim is to analyse the chemical composition of cranberry, as well as its health benefits.

The studied species, *Vaccinium macrocarpon* Aiton, was primarily found in North America.

Cranberry fruits contain significant amounts of phytochemicals which have beneficial health effects. This study shows that cranberry fruits have antioxidant, anti-inflammatory, anticancer and antimicrobial properties and are therefore important in the prevention of several diseases.

This monography studies the action of this fruit in the prevention of metabolic syndrome and its risk factors, of periodontitis and dental caries, several types of cancer and urinary tract infections (UTI). The study shows that cranberry plays a role in preventing and help reducing such diseases.

Therefore, cranberries are recognized as a health-supportive fruit that can bring several health benefits and should thus be considered in combating certain pathologies.

**Keywords:** Cranberry; *Vaccinium macrocarpon*; bioactive compounds; effect on health.



## Índice Geral

<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>6</b>
<b>Índice de Tabelas .....</b>	<b>7</b>
<b>Lista de abreviaturas.....</b>	<b>9</b>
<b>Capítulo 1 - Introdução.....</b>	<b>11</b>
1.1 Arando vermelho .....	11
1.1.1 Classificação Taxonómica .....	12
1.1.2 Composição química.....	12
<b>Capítulo 2 - Propriedades antioxidantes do cranberry.....</b>	<b>19</b>
<b>Capítulo 3 - Cranberry e Síndrome Metabólica .....</b>	<b>21</b>
<b>Capítulo 4 - Cranberry e Saúde Oral .....</b>	<b>27</b>
<b>Capítulo 5 - Cranberry e Ação Anticancerígena .....</b>	<b>33</b>
5.1 <i>in vitro</i> .....	34
5.2 <i>in vivo</i> .....	40
<b>Capítulo 6 - Cranberry e Infecções do Trato Urinário.....</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 7 - Conclusão .....</b>	<b>47</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>49</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - <i>Vaccinium macrocarpon</i> Aiton. Adaptado de: New England Wild Flower Society. ....	12
<b>Figura 2</b> - Compostos Fenólicos. Não flavonóides vs Flavonóides. Adaptado de: (Ferreira & Abreu, 2007).....	13
<b>Figura 3</b> - Proantocianidina B2 e Proantocianidina A2, respetivamente Retirado de: (Pappas & Schaich, 2009; Yoo et al., 2011).....	17
<b>Figura 4</b> - Estruturas químicas de alguns compostos presentes no cranberry. Adaptado de: Vvedenskaya et al., 2004; Yoo, Murata, & Duarte, 2011; (Pappas & Schaich, 2009).....	18
<b>Figura 5</b> - Fatores de virulência envolvidos na formação de biofilmes por <i>Porphyromonas gingivalis</i> . Retirado de: (Gerits et al., 2017).....	28
<b>Figura 6</b> - Propriedades do cranberry que inibem os mecanismos patogénicos envolvidos no desenvolvimento da periodontite. Adaptado de: (C. Bodet et al., 2008) 30	
<b>Figura 7</b> - Resumos das ações do Cranberry contra a cárie dentária. Adaptado de: (C. Bodet et al., 2008) .....	31
<b>Figura 8</b> – Diferentes vias de atuação do Cranberry contra as células cancerígenas. ....	33

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Quantidade total de compostos fenólicos em diferentes bagas. Adaptado de: (Szajdek & Borowska, 2008).....	14
<b>Tabela 2</b> - Compostos fenólicos mais abundantes no cranberry e os seus benefícios para a saúde. Adaptado de: (Kowalska & Olejnik, 2016a; Pappas & Schaich, 2009) ...	15
<b>Tabela 3</b> - Efeito do consumo de cranberry em vários biomarcadores associados à síndrome metabólica.....	25
<b>Tabela 4</b> - Efeitos benéficos do cranberry na saúde oral. ....	32
<b>Tabela 5</b> - Resumos dos estudos <i>in vitro</i> sobre o efeito do cranberry e dos seus constituintes em diferentes tipos de cancro. Adaptado de: (K. Weh et al., 2016).....	38
<b>Tabela 6</b> - Estudos <i>in vivo</i> sobre o efeito do cranberry na inibição de diferentes tipos de cancro. Adaptado de: (K. Weh et al., 2016) .....	42



## **Lista de abreviaturas**

CAT – Catalase

DP – Doença periodontal

FTF- Fructosiltransferases

GPH-Px – Glutathione peroxidase

GPH-R – Glutathione reductase

GSH – Glutathione

GTF – Glucosiltransferases

HDL – Lipoproteína de alta densidade

IL-1 - Interleucina 1

IL-18 - Interleucina 18

IL-6 – Interleucina 6

IL-8 - Interleucina 8

ITU – Infecções do trato urinário

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

MCP-1 – Proteína quimiotática de monócitos 1

MDA - Malondialdeído

MMPs – Metaloproteínases da matriz

NDM – material de alto peso molecular não dialisável de cranberry

NO - Óxido Nítrico

PAC - Proantocianidinas

PAC-A – Proantocianidinas tipo A

PAI-1 - Inibidor do ativador de plasminogénio tipo 1

PCR - Proteína C-reativa

SOD – Superóxido dismutase

TIMPs – Inibidores de metaloproteinases da matriz

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral

UCF - Unidades formadores de colónias



## **Capítulo 1 - Introdução**

Atualmente, existem evidências de que uma dieta rica em frutas e vegetais tem um elevado valor nutricional e terapêutico devido à composição rica em compostos bioativos, que reduzem o risco de desenvolver várias doenças (Health et al., 2013).

Os fundamentos de vários estudos científicos mostram que os compostos fitoquímicos e as suas atividades proporcionam vários benefícios para a saúde, sendo que a sua utilização está a aumentar cada vez mais (Paredes-López, Cervantes-Ceja, Vigna-Pérez, & Hernández-Pérez, 2010).

Os frutos de baga são caracterizados pela sua composição com alto teor e amplamente diversificada de fitoquímicos. Tendo em conta a ampla gama de propriedades destes compostos, torna-se pertinente perceber de que forma é que atuam na prevenção de certas doenças (Szajdek & Borowska, 2008).

A presente monografia teve como principal objetivo caracterizar a composição química do arando vermelho, assim como as suas propriedades e mecanismos de ação na prevenção da síndrome metabólica e dos seus fatores de risco, periodontite e cáries, alguns tipos de cancro e de infeções do trato urinário. Para a sua elaboração foi realizada uma revisão sistemática de vários artigos científicos retirados de fontes online (PubMed, Web of Science, SciELO).

### **1.1 Arando vermelho**

O arando vermelho é um fruto que cresce em pequenos arbustos com sensivelmente meio metro de altura. Esta baga, utilizada para fins terapêuticos, é de pequenas dimensões (1 a 2 cm de diâmetros), possui uma cor vermelha bastante intensa quando madura (Figura 1) e é caracterizada pela sua adstringência e sabor ácido acentuado. É encontrado em grande escala na América do Norte, sendo que para o seu crescimento são necessários solos pantanosos (Skrovankova, Sumczynski, Mlcek, Jurikova, & Sochor, 2015).

O arando vermelho pode ser encontrado e consumido sob várias formulações, desde a baga fresca ao seu sumo concentrado, baga desidratada, chás e até mesmo em suplementos alimentares (comprimidos/cápsulas) (Pardo-Mates et al., 2017).



**Figura 1** - *Vaccinium macrocarpon* Aiton. Adaptado de: New England Wild Flower Society.

### 1.1.1 Classificação Taxonómica

Também conhecido por cranberry, designação inglesa, é classificado pela divisão Magnoliophyta (Angiospermas), classe Magnoliopsida, ordem Ericales, família Ericaceae, género *Vaccinium*, subgénero *Oxycoccus* e espécie *Vaccinium macrocarpon* Aiton. Existem outras espécies que diferem a nível da localização geográfica, cultivo e composição fitoquímica (Oszmianski, Wojdylo, Lachowicz, Gorzelany, & Matlok, 2016; Polashock et al., 2014).

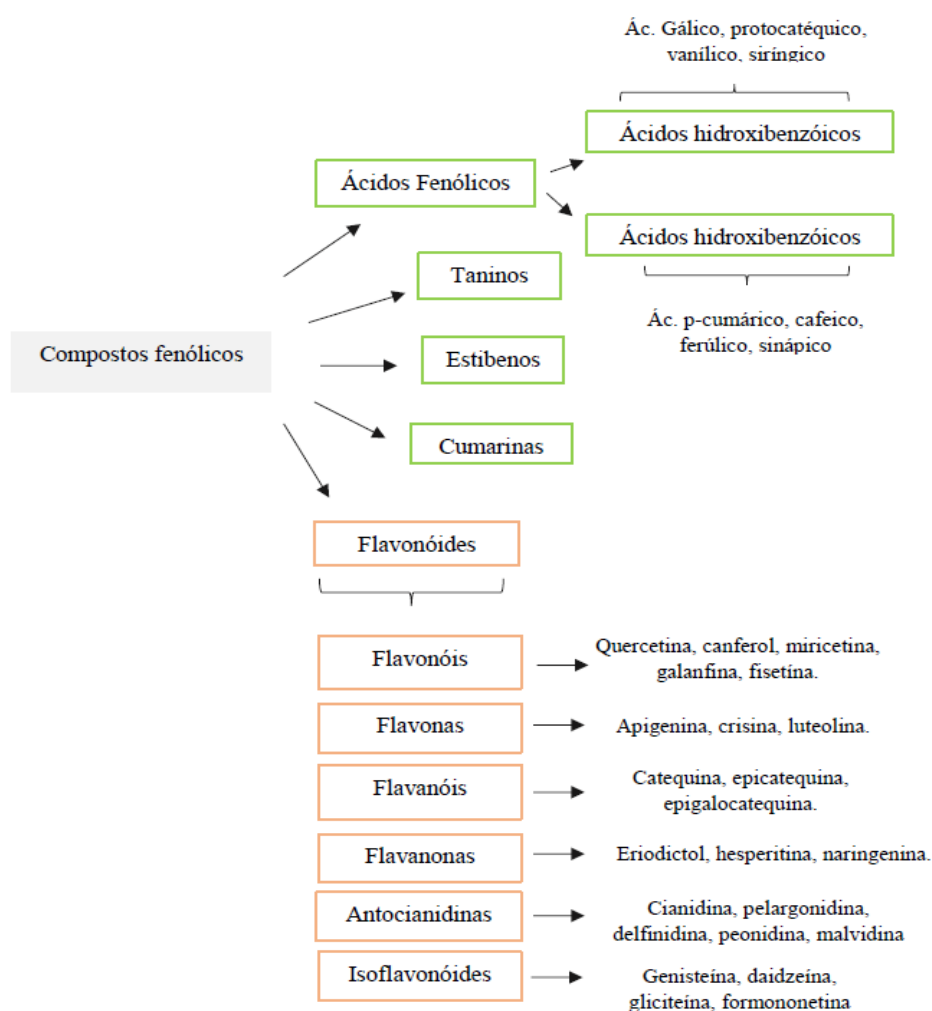
### 1.1.2 Composição química

O arando vermelho é considerado uma fonte valiosa de substâncias biologicamente ativas, proporcionando efeitos positivos para a saúde. A sua composição é rica em compostos inorgânicos e orgânicos. Entre os inorgânicos destacam-se: a água, potássio, cálcio, sódio, fósforo, magnésio, ferro e iodo. Relativamente aos constituintes orgânicos, o cranberry apresenta: glucose, frutose, proteínas, ceras, pectinas, vitaminas C, A, B1 e

B2, ácidos orgânicos (ácido málico, quínico, cítrico e benzóico) e compostos fenólicos (Paredes-López et al., 2010).

### Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos pertencem a um grupo bastante amplo de componentes químicos que possuem um ou mais anéis aromáticos, em que pelo menos um hidrogénio é substituído por um grupo hidroxilo. Existem dois grupos distintos de compostos fenólicos: os flavonóides e os não flavonóides (Figura 2) (Kowalska & Olejnik, 2016; Ferreira & Abreu, 2007).



**Figura 2** - Compostos Fenólicos. — Não flavonóides — Flavonóides. Adaptado de: (Ferreira & Abreu, 2007)

As propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-cancerígenas e antibacterianas que o cranberry possui são conferidas por estes compostos, proporcionando vantagens para a saúde como a prevenção de várias doenças (Pardo-Mates et al., 2017).

Por serem compostos instáveis, podem sofrer degradação durante as etapas de processamento e armazenamento dos alimentos (Oszmiański, Kolniak-Ostek, Lachowicz, Gorzelany, & Matłok, 2015).

Em comparação com outras bagas, *Vaccinium macrocarpon* Aiton é uma das espécies com maior quantidade de compostos fenólicos na sua composição (Tabela 1) (Szajdek & Borowska, 2008).

**Tabela 1** - Quantidade total de compostos fenólicos em diferentes bagas. Adaptado de: (Szajdek & Borowska, 2008)

<b>Espécies</b>	<b>Compostos Fenólicos (mg/100g peso fresco)</b>
Chokeberry ( <i>Aronia melanocarpa</i> )	690,2
Bilberry ( <i>Vaccinium myrtillus</i> )	525
Blackberry ( <i>Rubus fruticosus</i> )	417 – 555
Blueberry ( <i>Vaccinium corymbosum</i> )	261 - 585
Cranberry ( <i>Vaccinium macrocarpon</i> )	315
Raspberry ( <i>Rubus idaeus</i> )	192 – 359
Strawberry ( <i>Fragaria X ananassa</i> )	102

Os compostos fenólicos predominantes no cranberry e que mais proporcionam efeitos benéficos para a saúde pertencem ao grupo dos flavanóis (flavano-3-ol), flavonóis, proantocianidinas tipo A (PAC-A), antocianinas e ácido ursólico (Tabela 2) (Kowalska & Olejnik, 2016a).

**Tabela 2** - Compostos fenólicos mais abundantes no cranberry e os seus benefícios para a saúde. Adaptado de: (Kowalska & Olejnik, 2016a; Pappas & Schaich, 2009)

<u>Compostos fenólicos</u>	<u>Quantidade total (mg/100g Peso Fresco)</u>	<u>Potenciais benefícios para a saúde</u>
<b>Monómeros e dímeros de Flavano-3-ol (flavanóis)</b>	7 - 33	Anticancerígeno, anti-inflamatório, antioxidante, benefícios cardiovasculares.
(-)-epicatequina		
(+)-epicatequina		
(-)-catequina		
(+)-catequina		
<b>Proantocianidinas</b>	133 – 367	
Proantocianidinas tipo A		Anti-adesão bacteriana, antioxidante, anti-ulceroso, proteção da função neurológica.
Proantocianidinas tipo B		
<b>Antocianinas</b>	13 – 171	Anticancerígeno, antioxidante, proteção da função neurológica, benefícios cardiovasculares.
Cianidina-3-O-galactosido		
Cianidina-3-O-arabinosido		
Peonidina-3-O-galactosido		
Peonidina-3-O-arabinosido		
<b>Ácidos Hidroxibenzóicos</b>	503 – 602	
Ácido benzóico		
Ácido <i>p</i> -hydroxibenzóico		
Ácido o-hydroxibenzóico		
<b>Ácidos Hidroxicinâmicos</b>	8,8 - 25	
Ácido <i>p</i> -cumárico		
Ácido cafeico		
Ácido ferúlico		
Ácido sinápico		
<b>Terpenos</b>	65 – 125	Benefícios cardíacos, anticancerígeno
Ácido ursólico		
<b>Flavonóis</b>	20 – 40	Antioxidante, anticancerígeno, anti-inflamatório, benefícios cardiovasculares.
Quercetina		
Miricetina		
Canferol		

Entre estes compostos, as antocianinas possuem um papel bastante importante. Estas são um grupo de compostos fenólicos responsáveis pela cor de diversas plantas, flores e frutas. A coloração pode variar entre o vermelho (condição ácida) e o azul ou amarelo (condição alcalina) (Paredes-López et al., 2010).

Existem vários tipos de antocianinas que diferem na sua natureza, no número de grupos hidroxilos e de açúcares ligados à sua estrutura e a posição dessas ligações (Sancho & Pastore, 2012).

As antocianinas mais encontradas no arando vermelho são: 3-O-galactosido e 3-O-arabinosido de cianidina e peonidina. (Oszmianski et al., 2016; Paredes-López et al., 2010).

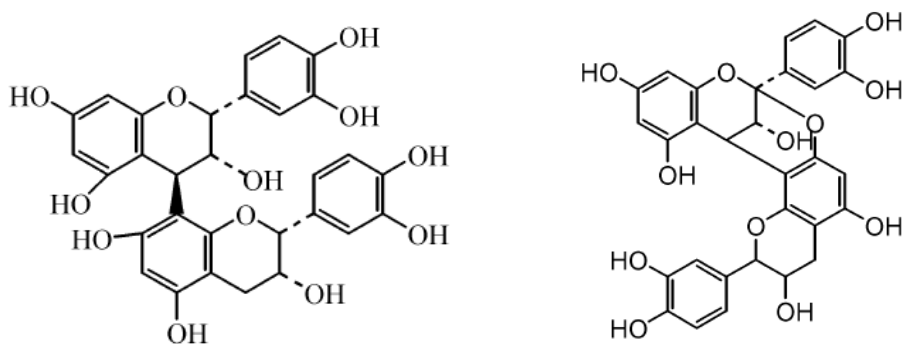
Para além das funções que possuem a nível vegetal, como proteger as folhas contra danos provocados pela luz UV, estes compostos possuem uma elevada importância na dieta humana. Devido à sua elevada capacidade de neutralizar radicais livres, conferindo-lhes assim propriedades antioxidantes, as antocianinas são consideradas potenciais aliadas na prevenção de doenças cardiovasculares, cancros e doenças neurodegenerativas (Paredes-López et al., 2010).

Outros compostos que conferem uma extrema importância ao cranberry são os taninos. Estes são polifenóis de origem natural, com peso molecular entre 500 e 3000. Dividem-se em dois grupos distintos: os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados (Skrovankova et al., 2015).

Os taninos hidrolisáveis podem sofrer degradação por hidrólise, seja ela química ou enzimática. A sua constituição é delineada por uma parte polialcoólica (geralmente, a glucose ou o ácido quinico) e por uma parte fenólica (ácido gálico, por exemplo) ligadas por uma ligação éster (Szajdek & Borowska, 2008).

Os taninos condensados, também conhecidos como proantocianidinas (PAC), são polímeros que possuem duas ou mais unidades de flavan-3-ol (catequinas/epicatequinas) ligadas por ligações carbono-carbono sensíveis à hidrólise. Estes compostos conferem o sabor amargo que é característico do cranberry. De acordo com o seu grau de polimerização, a biodisponibilidade é afetada, assim como os efeitos benéficos que podem ser proporcionados no organismo (Kowalska & Olejnik, 2016a).

As PAC são classificadas consoante o seu tipo de ligação: no caso de a ligação ser feita entre o C4 de uma unidade e o C6 ou C8 de outra unidade flavonóide, são classificadas como tipo B (PAC-B); se a ligação entre o C2 de uma unidade e o C5 ou C7 de outra unidade para além das acima referidas, as PAC são consideradas tipo A (PAC-A) (Figura 3). Comparando os dois tipos de ligação, estas últimas possuem uma maior estabilidade. Em contraste com outras bagas que possuem maioritariamente na sua composição PAC-B, o cranberry tem um elevado teor de PAC-A que são reconhecidas pela sua forte atividade antioxidante e o seu efeito contra a adesão de microorganismos patogénicos no trato urinário. Já as PAC-B, não demonstram atividade anti-adesão (Pardo-Mates et al., 2017).



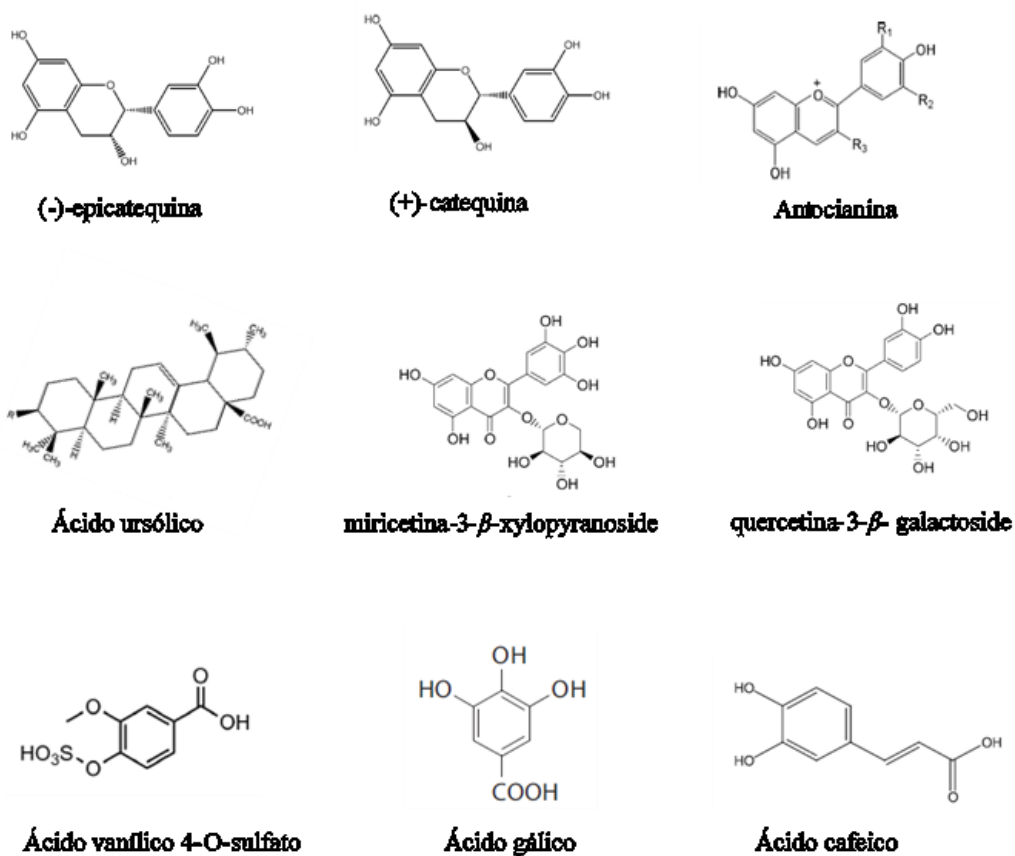
**Figura 3** - Proantocianidina B2 e Proantocianidina A2, respetivamente Retirado de:  
(Pappas & Schaich, 2009; Yoo et al., 2011)

As PAC proporcionam efeitos benéficos no organismo humano, não só a sua atividade antioxidante, como ação anti-inflamatória, anticancerígena, antidiabética e cardioprotetora, como mencionado na Tabela 2.

Apesar de serem um dos compostos mais abundantes no cranberry, apresentam algumas dificuldades a nível da sua absorção pelo organismo. Somente os seus monómeros e dímeros conseguem ser absorvidos. O grau de polimerização afeta negativamente a absorção das PAC e, quando este é superior a 2, existe uma dificuldade acrescida a nível da sua absorção sanguínea. Isto deve-se à microflora existente no intestino dos seres humanos, uma vez que degrada este tipo de moléculas. A acidez do

estômago não interfere com a sobrevivência destas moléculas, o que não acontece no intestino, visto que aqui são degradadas em moléculas de baixo peso molecular (Pardo-Mates et al., 2017).

Na figura 4 estão representadas as estruturas de alguns compostos fenólicos presentes no cranberry.



**Figura 4** - Estruturas químicas de alguns compostos presentes no cranberry. Adaptado de: Vvedenskaya et al., 2004; Yoo, Murata, & Duarte, 2011; (Pappas & Schaich, 2009)



## Capítulo 2 - Propriedades antioxidantes do cranberry

O *stress* oxidativo está implicado no desenvolvimento de várias patologias, como doenças cardiovasculares, vários tipos de cancro, diabetes, doenças neurodegenerativas. O arando vermelho, pela sua composição fitoquímica, desperta um enorme interesse na prevenção destas patologias devido à sua capacidade antioxidante. O seu efeito protetor está relacionado com a captação de espécies reativas de oxigénio (ROS) (Martín, M; Ramos,S; Mateos,R; Marais, J; Bravo-Clemente,L ; Khoo,C; Goya, 2015).

Os radicais livres são átomos ou moléculas que contêm um ou mais eletrões desemparelhados, ou seja, possuem orbitais com apenas um eletrão, o que lhes confere uma forte reatividade. As espécies reativas de oxigénio (ROS) constituem a classe mais importante de radicais livres produzidos pelo organismo (ânion superóxido ( $O_2^-$ )). Contudo, existem outros radicais, como o óxido nítrico (NO), peróxido de hidrogénio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxilo (HO) (Ferreira & Abreu, 2007).

As defesas antioxidantes das células, enzimas e moléculas não enzimáticas, removem a maior parte dos radicais livres de modo a manter o equilíbrio para o bom funcionamento do organismo (Novotny, Baer, Khoo, Gebauer, & Charron, 2015).

As defesas antioxidantes endógenas podem envolver enzimas como: a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPH-Px), a glutathione reductase (GPH-R), entre outras. Já nas defesas antioxidantes não enzimáticas destacam-se a glutathione (GSH), a vitamina E ( $\alpha$ -rocoferol), a vitamina C (ácido ascórbico), os flavonóides, entre outros (Martín, M; Ramos,S; Mateos,R; Marais, J; Bravo-Clemente,L ; Khoo,C; Goya, 2015).

A produção fisiológica de radicais livres é benéfica para saúde, sendo apenas um problema quando se torna excessiva. Quando isto acontece estamos perante um cenário de *stress* oxidativo, que compromete o equilíbrio homeostático conduzindo a danos oxidativos a nível dos lípidos, proteínas e DNA (Skrovankova et al., 2015).

Os antioxidantes presentes na nossa dieta têm uma grande importância, uma vez podem proporcionar uma ação protetora face aos danos oxidativos. Desta forma, a composição fitoquímica do arando vermelho desperta um enorme interesse a nível da sua

capacidade antioxidante, uma vez que neutraliza e/ou impede a formação excessiva de radicais livres (Novotny et al., 2015).

## Capítulo 3 - Cranberry e Síndrome Metabólica

A síndrome metabólica consiste num conjunto de fatores de risco, fundamentalmente cardiovasculares, que têm por base a obesidade abdominal, isto é, um aumento do tecido adiposo. Os indivíduos que possuem esta síndrome têm um risco acrescido de desenvolver problemas cardiovasculares (ataque cardíaco e AVC, por exemplo) e diabetes mellitus tipo 2. Para o seu diagnóstico há que ter em consideração a presença de 3 dos 5 fatores de risco: obesidade, aumento dos triglicéridos ( $\geq 150\text{mg/dL}$ ), colesterol - HDL diminuído ( $\leq 40\text{mg/dL}$  para os homens e  $\leq 50\text{mg/dL}$  para as mulheres), hipertensão arterial ( $\geq 130/85\text{ mmHg}$ ) e níveis de glicémia em jejum elevados ( $\geq 100\text{mg/L}$ ) (Vendrame, Del Bo', Ciappellano, Riso, & Klimis-Zacas, 2016).

A inflamação crónica de baixo grau é uma das características presentes na síndrome metabólica em combinação com o *stress* oxidativo, levando a danos nos tecidos como por exemplo, disfunção endotelial, trombose, resistência à insulina, aumento da pressão arterial (Overall et al., 2017).

A gordura visceral, isto é, a gordura que se acumula junto dos órgãos, induz a produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como é o caso da interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1/CCL2), leptina e inibidor do ativador de *plasminogénio* tipo 1 (PAI-1), levando a um aumento exacerbado da inflamação (Francisqueti et al., 2017).

O tecido adiposo produz cerca de um terço de IL-6 circulante e é possível que o aumento da sua expressão em indivíduos obesos esteja associado ao desenvolvimento de complicações, como a resistência à insulina e doenças cardiovasculares que contribuem para a disfunção metabólica (Kowalska & Olejnik, 2016a). A MCP-1 estimula a quimiotaxia de monócitos e outros eventos celulares, isto é, desempenha um papel fundamental na migração dos monócitos no processo de inflamação. Foi demonstrado que esta quimiocina está presente no processo de inflamação do tecido adiposo e na resistência à insulina, portanto, os agentes que inibam a migração desta são potenciais estratégias de prevenção de várias doenças relacionadas com a obesidade (Panee, 2012). Já a leptina é uma hormona que está fortemente relacionada com a obesidade, uma vez que é produzida principalmente pelos adipócitos (Mathew, Castracane, & Mantzoros,

2017). A plasmina é uma enzima sanguínea, ativada pelo ativador de plasminogénio tecidual, bastante importante uma vez que degrada muitas proteínas do plasma sanguíneo, principalmente os coágulos de fibrina. O PAI-1 neutraliza a ação deste ativador, inibindo a clivagem deste em plasmina, o que interfere com a degradação dos coágulos, podendo ocorrer trombose. Foi demonstrado que em condições patológicas este inibidor está aumentado, como é o caso da obesidade (Dietrich, Ball, & Mitchell, 2016).

Daí ter-se realizado um estudo *in vitro*, com o objetivo de obter evidências sobre a resposta inibitória dos compostos bioativos de cranberry a processos inflamatórios no tecido adiposo. Para tal, estimulou-se as células adipócitas 3T3-L1 com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de modo a simular o processo inflamatório comum na síndrome metabólica, obtendo-se um aumento da expressão de IL-6, MCP-1, PAI-1 e leptina. O tratamento dos adipócitos 3T3-L1 com cranberry liofilizado após submetidos a *stress* oxidativo, demonstrou uma redução da expressão das citocinas envolvidas no processo de inflamação do tecido adiposo acima referidas. Demonstrou-se também, que o liofilizado de cranberry provocou apoptose nos adipócitos maduros de forma dependente da dose (Kowalska & Olejnik, 2016b).

Em indivíduos com síndrome metabólica, verificou-se que o sumo de cranberry de baixas calorias teve efeitos positivos no que diz respeito a biomarcadores inflamatórios. A capacidade antioxidante plasmática aumentou significativamente, verificando-se um aumento da actividade das enzimas antioxidantes endógenas. Por outro lado, a oxidação de LDL, biomarcador associado a doenças cardiovasculares, e os níveis de malondialdeído (MDA), biomarcado de *stress* oxidativo, foram significativamente reduzidos. A proteína C reativa é uma proteína plasmática sintetizada pelo fígado e quando aumentada é um forte indicador de inflamação, neste caso também associado com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Verificou-se uma redução dos níveis desta proteína e da IL-6, apesar de ter sido pouco significativa (Basu et al., 2012).

Um outro estudo realizado em indivíduos obesos com diabetes mellitus tipo 2, mostrou que as bagas desidratadas de cranberry diminuem a hiperglicemia pós-prandial e a inflamação. Na diabetes tipo 2, a fase pós-prandial é descrita principalmente pelo aumento da glicémia e dos triglicéridos, o que colabora com o desenvolvimento da disfunção endotelial, *stress* oxidativo e inflamação (Blaak et al., 2012). Por estes motivos a redução da hiperglicemia pós-prandial e dos níveis de triglicéridos é bastante importante. Os resultados demonstraram uma diminuição significativa dos níveis de

glicose pós-prandial após a intervenção em comparação com o grupo placebo. Houve também uma diminuição pós-prandial do biomarcador MDA, tal como no estudo anterior, assim como na IL-18, cuja produção é mais elevada em indivíduos obesos, diagnosticados com diabetes mellitus tipo 2 ou síndrome metabólica (Smart et al., 2011). Apesar de não ter sido uma redução significativa, a IL-6 mostrou-se menor no grupo de intervenção em comparação com o grupo placebo. Por outro lado, a resistência à insulina, os níveis pós-prandiais de colesterol total, LDL, HDL e triglicéridos não demonstraram diferenças significativas, o que significa que este mecanismo ainda não se encontra totalmente esclarecido (Schell, Betts, Foster, Scofield, & Basu, 2017).

A redução moderada dos níveis de glicémia em jejum, colesterol total, triglicéridos e IMC também foi observada em indivíduos que consumiram sumo de cranberry. Os níveis de proteína C-reativa (PCR) mostraram ser significativamente reduzidos nestes indivíduos (Duffey & Sutherland, 2015). A síntese de PCR pode ser regulada por algumas citocinas, como a IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ . Os seus efeitos pró-inflamatórios têm um papel importante, uma vez que quando esta se liga a moléculas derivadas da inflamação origina lesão tecidual. Os seus valores elevados estão correlacionados com eventos vasculares, presença de hiperglicémia, hipertensão arterial, síndrome metabólica, assim como na génese de aterosclerose. Com isto, a PCR torna-se um preditor de eventos cardiovasculares (Barbalho et al., n.d.).

A adiponectina é uma adipocina anti-inflamatória que é libertada em pequenas quantidades em indivíduos obesos. O sumo de cranberry mostrou ser eficaz no seu aumento em indivíduos com síndrome metabólica. Por outro lado, reduziu os níveis de homocisteína nestes indivíduos, o que mostra o seu efeito positivo na prevenção de danos nos vasos sanguíneos (Barbalho et al., n.d.). Para além disto e de encontro com os resultados anteriormente referidos, os níveis biomarcadores pró-inflamatórios (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  e PCR) foram moderadamente reduzidos (Simão et al., 2013).

A disfunção endotelial está fortemente relacionada com o desenvolvimento de patologias cardiovasculares e metabólicas. Os danos a nível do endotélio são provocados pelo *stress* oxidativo criado nos vasos sanguíneos, prejudicando o bom funcionamento destes. A vasodilatação, mediada pela libertação de óxido nítrico, provoca uma ação protetora sobre as células do músculo cardíaco. Desta forma, a sua diminuição pode

originar doenças cardiovasculares, como é o caso da aterosclerose e hipertensão (Vendrame et al., 2016).

Visto que as mulheres pós-menopausa apresentam um risco acrescido para desenvolver doenças cardiovasculares devido à deficiência de estrogénios, foi realizado um estudo em animais a fim de perceber os efeitos do consumo de sumo de cranberry a nível dos perfis de colesterol e das funções vasculares. Durante 8 semanas, os ratos submetidos a ovariectomia com deficiência em estrogénios foram tratados com sumo de cranberry (7mg/Kg). Os resultados mostraram que o sumo de cranberry melhorou o perfil lipídico, reduzindo os níveis de colesterol total, LDL e triglicéridos. Para além disso, reduziu o *stress* oxidativo e restaurou os níveis de óxido nítrico (NO) no endotélio o que melhorou o relaxamento nível vascular e do músculo liso (Yung et al., 2013).

Na Tabela 3 encontram-se detalhados os estudos analisados sobre o efeito do cranberry nos diferentes biomarcadores associados à síndrome metabólica .

**Tabela 3** - Efeito do consumo de cranberry em vários biomarcadores associados à síndrome metabólica.

<b>Autores</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Resultados</b>
(Kowalska & Olejnik, 2016a)	Investigar a resposta inibitória do cranberry em processos inflamatórios no tecido adiposo <i>in vitro</i> .	Células adipócitas 3T3-L1 estimuladas com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e tratadas com cranberry.	Redução dos seguintes mediadores pró-inflamatórios: IL-6, MCP-1, PAI-1 e leptina.
(Basu et al., 2011)	Testar o efeito do sumo de cranberry de baixas calorias sobre biomarcadores associados à síndrome metabólica.	16 indivíduos com síndrome metabólica induzidos a tratamento com sumo de cranberry durante 8 semanas (420 mL/dia) vs. Grupo placebo.	Aumento da capacidade antioxidante plasmática, diminuição significativa de LDL oxidado e MDA. Níveis de IL-6 e PCR moderadamente diminuídos.
(Schell et al., 2017)	Analisar o efeito das bagas desidratadas de cranberry na diminuição da hiperglicemia pós-prandial e inflamação em indivíduos obesos com diabetes mellitus tipo 2.	2 semanas de tratamento onde incluíram bagas desidratadas de cranberry no pequeno almoço de 25 indivíduos obesos vs grupo placebo.	Diminuição significativa da glicose sérica pós-prandial em comparação com o grupo placebo. Diminuição pouco significativa da insulina sérica e resistência à insulina, colesterol total, LDL e triglicéridos. Diminuição da IL-18 e MDA.
(Duffey & Sutherland, 2015)	Análise do efeito do sumo de cranberry nos marcadores cardiometabólicos.	Adultos consumidores (n=330) vs não consumidores (n=10004)	Diminuição moderada dos níveis de glicémia em jejum, colesterol total, triglicéridos e IMC. Redução significativa de PCR no grupo de consumidores.
(Simão et al., 2013)	Avaliar os efeitos do sumo de cranberry em vários biomarcadores metabólicos e inflamatórios, homocisteína e adiponectina.	Indivíduos com síndrome metabólica (n=21) vs grupo placebo (n=37). 60 dias de estudo, 200mL de sumo de cranberry/dia.	Aumento significativo dos níveis de adiponectina; Redução dos níveis de homocisteína; Redução moderada de IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ e PCR.
(Yung et al., 2013)	Verificar o efeito do sumo de cranberry nos perfis de colesterol e funções vasculares.	Ratos ovariectomizados com deficiência em estrogénios tratados com sumo de cranberry (7mg/Kg) durante 8 semanas.	Redução dos níveis de colesterol total, LDL e triglicéridos. Restaurou níveis de NO no endotélio, melhorando o relaxamento do músculo liso.





## Capítulo 4 - Cranberry e Saúde Oral

Vários estudos têm demonstrado que o cranberry possui efeitos benéficos não só na doença periodontal (DP), como nas cáries devido à sua composição química, mais especificamente as proantocianidinas do tipo A (Tabela 4).

A DP é considerada uma infecção de origem bacteriana, envolvendo um grupo específico de bactérias anaeróbias gram-negativas. Entre estas, destacam-se: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia*. Estes microrganismos estão fortemente associados à patogenicidade da periodontite (Feghali, Feldman, La, Santos, & Grenier, 2012).

A patogénese da DP está diretamente relacionada com os danos provocados por estas bactérias, pela secreção dos seus produtos tóxicos e com a resposta do hospedeiro a estes patogénicos periodontais. Ao colonizarem os locais subgengivais, estas bactérias anaeróbias gram-negativas induzem respostas imunológicas do hospedeiro. Normalmente, estas impedem a progressão da periodontite. Contudo, por existir uma estimulação contínua do sistema imunitário, esta resposta pode ser descontrolada e conduzir a processos destrutivos (destruição dos tecidos moles e reabsorção óssea alveolar, por exemplo) através da produção excessiva de mediadores inflamatórios (citoquinas pró-inflamatórias) e metaloproteinases da matriz (MMPs) (Van Dyke, 2017).

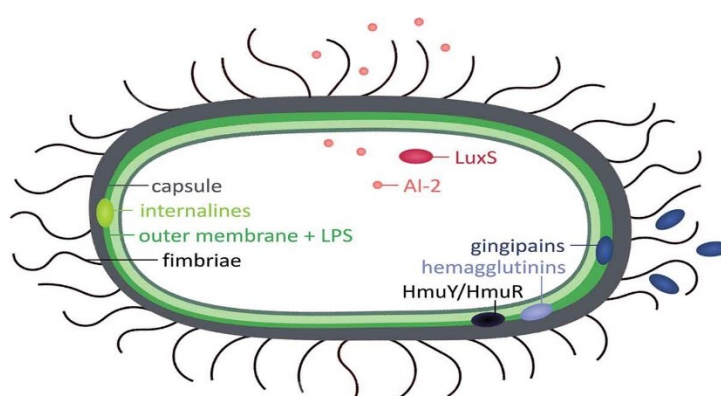
Estas últimas são enzimas proteolíticas libertadas pelas principais células dos tecidos periodontais (fibroblastos, neutrófilos e macrófagos). As MMPs, em circunstâncias ditas normais, desempenham um papel a nível da cicatrização de feridas, angiogénese e remodelação do tecido gengival. Contudo, quando o hospedeiro é ameaçado por patogénicos periodontais, a produção destas enzimas aumenta drasticamente provocando um desequilíbrio entre as MMPs activadas e os seus inibidores endógenos – inibidores de metaloproteinases da matriz (TIMPs) – levando a um colapso da matriz extracelular durante DP. Deste modo, a produção excessiva de MMPs conduz à destruição dos tecidos periodontais devido à degradação dos ligamentos, perda de colagénio e reabsorção do osso alveolar. Deste modo, as MMPs são sugeridas como marcadores de destruição do tecido periodontal (Feghali et al., 2012).

Existem dois grupos de doenças periodontais mais comuns: a gengivite e a periodontite. A gengivite é a forma mais amena e reversível de DP e afeta até 90% dos adultos em todo o mundo. A sintomatologia mais frequente manifesta-se por eritema, inchaço e sangramento gengival (Wade, 2013).

Por outro lado, a periodontite é uma doença inflamatória crónica de origem polibacteriana que causa destruição dos tecidos de suporte dos dentes, inclusive o ligamento periodontal e o osso alveolar. Em casos extremos pode haver perda dentária (Yu et al., 2017).

O desenvolvimento de biofilmes bacterianos é um processo bastante complexo e que passa por vários estágios. Quando estes se tornam maduros (estrutura tridimensional), as diferentes espécies podem interagir umas com as outras. Numa última fase, as células dispersam-se do biofilme, o que permite a formação de novos biofilmes (Gerits, Verstraeten, & Michiels, 2017).

*Porphyromonas gingivalis* é um dos exemplos de patogénicos periodontais que produz inúmeros fatores de virulência que contribuem para a sua patogenicidade, estando fortemente envolvido na etiologia da periodontite. Alguns exemplos destes fatores de virulência, como as fímbrias, lipopolissacarídeos (LPS), cápsula, proteases de cisteína (gingipainas), estão descritos na Figura 5 (Gerits et al., 2017).



**Figura 5** - Fatores de virulência envolvidos na formação de biofilmes por *Porphyromonas gingivalis*. Retirado de: (Gerits et al., 2017)

As PAC-A derivadas do cranberry, em concentrações de 25 e 50 µg/mL, mostraram ter efeitos contra *P. gingivalis* em células epiteliais orais humanas, uma vez que reduziram a formação de biofilmes, a adesão bacteriana, a atividade de MMP-9 e a produção de collagenase. Esta última, é uma enzima considerada um ponto crítico no desenvolvimento de periodontite, visto que interfere com o colagénio presente no tecido periodontal (Feghali et al., 2012; Feldman & Grenier, 2012).

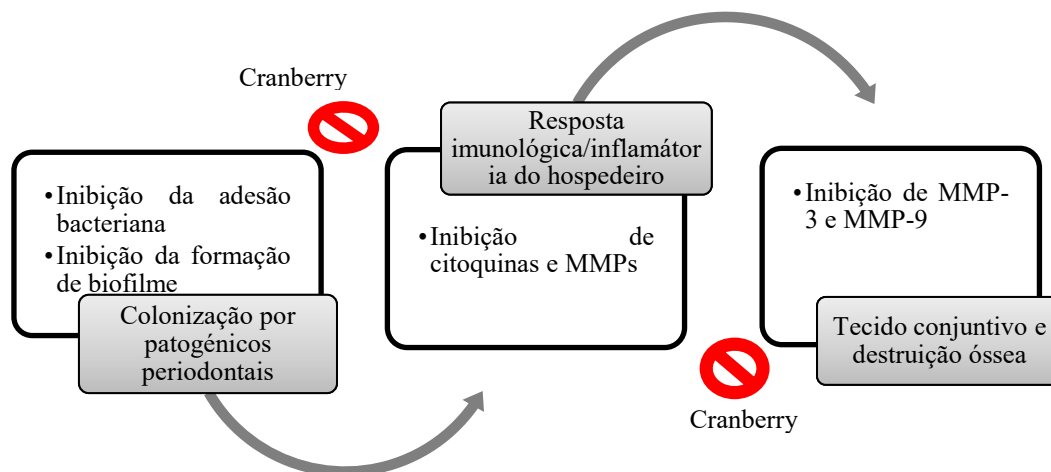
A perda óssea alveolar, característica da periodontite, pode ser regredida através da modulação da maturação e função dos osteoclastos. Apesar de não se mostrarem tóxicas, as PAC-A de cranberry mostraram inibir a diferenciação dos osteoclastos em células de reabsorção óssea. Assim, existe um potencial em redor destes compostos no controlo do processo de reabsorção óssea (Feghali et al., 2012).

Uma fração de material de alto peso molecular não dialisável de cranberry (NDM) exibiu um efeito positivo contra as atividades proteolíticas, não só de *P. gingivalis*, como de *T. forsythia* e *T. denticola*. A atividade da protease gingipain em *P. gingivalis* foi reduzida, assim como a atividade da collagenase, o que vai de encontro com os resultados do estudo mencionado anteriormente. A degradação de transferrina por esta bactéria pode resultar na destruição dos tecidos periodontais. NDM mostrou ter um efeito inibitório a nível da degradação da transferrina. Já a patogenicidade dos outros dois microrganismos, que possuem uma atividade semelhante à quimiotripsina, que tem um papel fundamental na invasão e destruição da membrana basal, mostrou ser diminuída. Outros biomarcadores responsáveis pela severidade da DP, como IL-1 $\beta$  e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), foram reduzidos na presença de NDM (C. C. Bodet, Piché, Chandad, & Grenier, 2006).

LL-37 é um péptido derivado de catelicidina, fitoquímico com um forte poder anti-oxidante, que possui propriedades anti-bacterianas (Tada et al., 2016). O efeito individual e sinérgico das PAC-A derivadas do cranberry e deste péptido foi avaliado num modelo de cultura 3D em células epiteliais gengivais e fibroblastos estimulados por LPS de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. O LPS originou uma produção excessiva de mediadores inflamatórios: IL-6, IL-8 e MCP-1. Para contrariar este efeito, as PAC-A a uma concentração de 25 µg/mL mostraram reduzir significativamente os níveis de IL-8 (cerca de 39%) e MCP-1 (cerca de 72%). Contudo, e contrariando resultados de outros estudos, não teve efeito significativo na redução de IL-6 (Tipton, Hatten, Babu, &

Dabbous, 2016). Esta foi reduzida em 61% pelo efeito sinérgico de PAC-A com LL-37 (Lombardo Bedran, Palomari Spolidorio, & Grenier, 2015).

Na Figura 6 encontram-se sucintamente descritas os efeitos do cranberry acima mencionados, que contrariam os mecanismos patogénicos envolvidos no processo de desenvolvimento da periodontite.



**Figura 6** - Propriedades do cranberry que inibem os mecanismos patogénicos envolvidos no desenvolvimento da periodontite. Adaptado de: (C. Bodet et al., 2008)

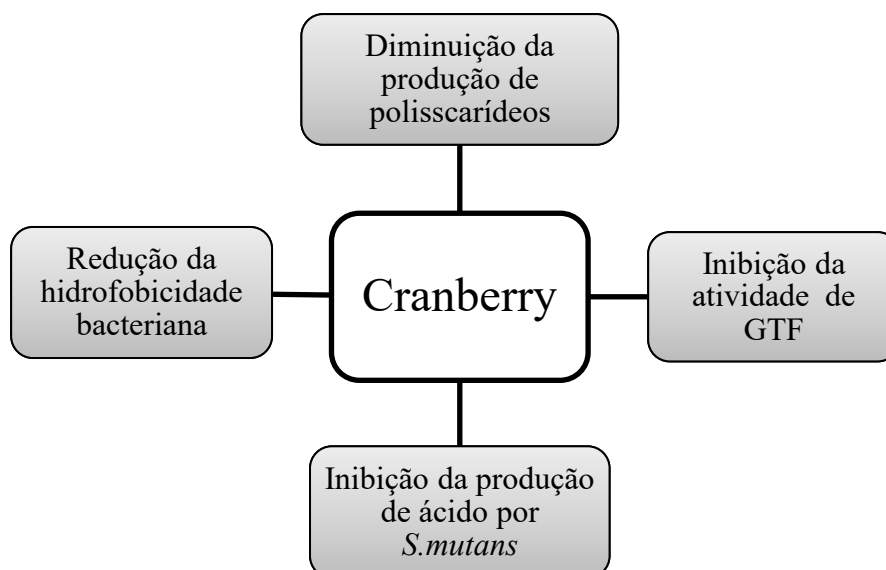
Os *Streptococcus mutans*, bactérias gram-positivas, são os principais agentes etiológicos da cárie dentária. Estas bactérias são típicas produtoras de ácido, causando danos na superfície do dente na presença de hidratos de carbono fermentáveis, mais propriamente a sacarose e frutose (Forssten, Björklund, & Ouwehand, 2010). As enzimas glucosiltransferase (GTF) e fructosiltransferase (FTF), essenciais para a produção de glucano e frutano, respetivamente, são consideradas fortes fatores de virulência destas bactérias uma vez que desempenham um papel fundamental a nível da adesão bacteriana e maturação do biofilme (C. Bodet et al., 2008).

A exposição diária de cranberry em ratos Sprague-Dawley demonstrou reduzir significativamente a formação de biofilme por *S.mutans*. Desta forma, observou-se uma diminuição de 40-45% das lesões nas superfícies dos dentes que pode ser explicada pela inibição da atividade das glicosiltransferases (Koo et al., 2010).

Estas enzimas mostraram ser sensíveis na presença de compostos presentes no cranberry. Os flavonóis, como a miricetina, mostraram efeitos moderados na inibição de GTF e FTF. Já as PAC-A2 mostraram ser significativamente eficazes na inibição de GTF (Yoo, Murata, & Duarte, 2011).

Outro fator cujo papel é de elevada importância a nível da adesão bacteriana é a hidrofobicidade das células do patogénico. O cranberry demonstrou ter um efeito positivo na redução da hidrofobicidade das células de *S.mutans*, interferindo assim com a adesão e formação de biofilmes (Yoo et al., 2011).

Na figura 7 estão resumidos os mecanismos de ação do cranberry que suportam os seus efeitos contra a cárie dentária.



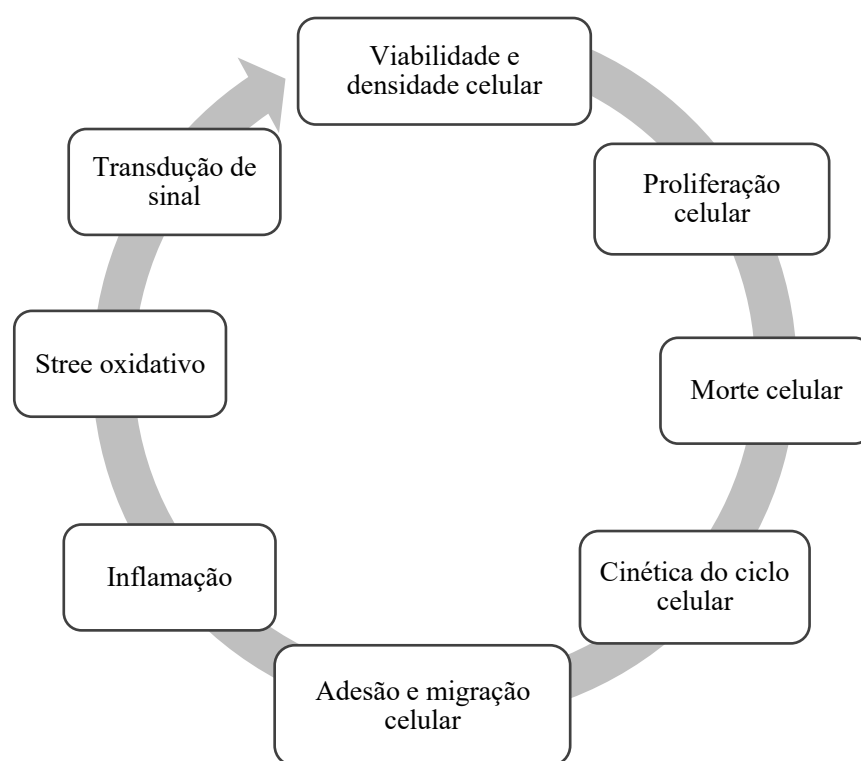
**Figura 7** - Resumos das ações do Cranberry contra a cárie dentária. Adaptado de: (C. Bodet et al., 2008)

**Tabela 4** - Efeitos benéficos do cranberry na saúde oral.

<b>Autores</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Amostra</b>	<b>Resultados</b>
(Feldman & Grenier, 2012)	Investigar o efeito individual de PAC-A de cranberry na formação de biofilmes e adesão bacteriana em células epiteliais orais humanas.	<i>P. gingivalis</i> ATCC 33277	Redução da formação de biofilmes, adesão bacteriana (25%), collagenase (66%) e atividade de MMP-9 (32%).
(C. C. Bodet et al., 2006)	Analisar o efeito de NDM de cranberry nas atividades proteolíticas de três microrganismos	<i>P.gingivalis</i> ATCC 33277 <i>T.denticola</i> ATCC 35405 <i>T.forsythia</i> ATCC 43037	NDM inibiu a proteínases de <i>P.gingivalis</i> , <i>T.denticola</i> e <i>T.forsythia</i> , bem como a degradação de colagénio e transferrina por <i>P.gingivalis</i>
(Tipton et al., 2016)	Determinar os efeitos do NDM de cranberry na produção de IL-6 e MMP-3 por fibroblastos gengivais	LPS de <i>P.gingivalis</i>	Níveis de IL-6 e MMP-3 foram reduzidos significativamente na presença de NDM.
(Lombardo Bedran et al., 2015)	Investigar os efeitos de PAC-A de cranberry e LL-37 em células epiteliais gengivais	LPS de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	Redução de IL-8 e MCP-1 por PAC-A; IL-6 reduzida apenas pelo efeito sinérgicos dos dois compostos.
(Koo et al., 2010)	Observar a influência do sumo de cranberry no desenvolvimento <i>in vitro</i> de biofilmes por <i>S.mutans</i> na cárie dentária	Ratos Sprague-Dawley	Inibição da glicosiltransferase e da adesão bacteriana na superfície revestida por glucano. A formação de biofilme por <i>S.mutans</i> também foi reduzida.
(Gregoire, Singh, Vorsa, & Koo, 2007)	Análise da influência dos compostos fenólicos do cranberry contra as ações de <i>S.mutans</i>	<i>S. mutans</i> WHB 410	Ocorreu uma inibição moderada pelos flavonóides e pelas PAC da atividade da glucosiltransferase e produção de ácido pelos <i>S.mutans</i> . A viabilidade bacteriana não foi afetada.
(Sethi & Govila, 2011)	Avaliar o efeito inibitório do sumo de cranberry na adesão e formação de biofilmes por <i>Streptococci</i> .	Placa dentária de 10 doentes do sexo masculino e feminino (20-40 anos)	Todas as placas apresentaram halos de inibição na colonização das espécies de <i>Streptococci</i> .

## Capítulo 5 - Cranberry e Ação Anticancerígena

O cranberry possui um enorme potencial para inibir vários tipos de cancro. Atualmente, a utilização do cranberry e dos seus constituintes na prevenção do cancro é ainda uma área pouco explorada. Os efeitos do cranberry no cancro podem ser descritos através de diferentes tipos de mecanismos de ação. Na Figura 8 estão indicadas as diferentes vias pela qual o cranberry e os seus constituintes podem afetar as células cancerígenas (K. Weh, Clarke, & Kresty, 2016).



**Figura 8** – Diferentes vias de atuação do Cranberry contra as células cancerígenas.

## 5.1 *in vitro*

De modo a analisar as diferentes vias de ação do cranberry contra vários tipos de cancro, fez-se uma análise de vários estudos *in vitro* colocados de forma sistematizada na Tabela 5.

### ***Inibição do crescimento celular e da viabilidade celular***

Verificou-se que o extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos, o sumo de cranberry, uma fração de cranberry rica em PAC e uma fração rica em flavonóides inibem significativamente a viabilidade das linhas celulares do cancro da mama (MCF-7 e MDA-MB-435) (Boivin, Blanchette, Barrette, Moghrabi, & Béliveau, 2007; Brian T. Murphy et al., 2003; Ferguson, Kurowska, Freeman, Chambers, & Koropatnick, 2004; Kondo et al., 2011; Seeram et al., 2006; Sun & Liu, 2006).

Relativamente ao cancro colo-retal, a fração de cranberry rica em PAC e o ácido ursólico mostraram ser mais eficazes a inibir a viabilidade das células HCT116 com concentrações inibitórias de crescimento de 25 µg/mL (Kondo et al., 2011). Contudo, o sumo de cranberry, o extrato rico em antocianinas e o extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos também demonstraram efeito, apesar de menos significativo, na diminuição da viabilidade das células cancerígenas HT-29. (Boivin et al., 2007; Seeram, Adams, Hardy, & Heber, 2004a).

O ácido ursólico e as PAC também atuaram contra a leucemia, mais especificamente contra as células RPMI8226 e K562, respetivamente, diminuindo a sua densidade (Neto et al., 2006; Kondo et al., 2011).

A nível do cancro esofágico, o extrato de cranberry rico em proantocianidinas também mostrou ser eficaz na diminuição da viabilidade das células JHEsoAD1 com concentrações entre 25-50 µg/mL (K. M. Weh, Aiyer, Howell, & Kresty, 2016).

Após um tratamento de 4 dias com ácido ursólico e quercetina, verificou-se uma diminuição significativa da viabilidade celular das células do cancro do fígado (HepG2), com concentrações inibitórias de crescimento de 87,4 µM e 40,9 µM, respetivamente (Xiangjiu He & Liu, 2006).



Comparando o efeito dos extratos de cranberry nas células DMS114 e NCI-H322M do cancro do pulmão, observou-se uma sensibilidade maior nestas últimas. O tratamento com extrato de cranberry rico em PAC (50-100µg/mL) mostrou ser mais eficaz na diminuição da viabilidade destas células em comparação com o tratamento com uma fração rica em flavonóides nas células DMS114. (Ferguson et al., 2004; Kresty, Howell, & Baird, 2008).

As linhas celulares CAL27 provenientes da cavidade oral foram suscetíveis ao tratamento com extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos de forma dependente da dose, sendo que se verificou uma diminuição da densidade e um aumento da apoptose celular (Chatelain et al., 2011). O efeito do mesmo extrato de cranberry foi analisado no tratamento das células KB da cavidade oral, mostrando efeitos significativos na diminuição da viabilidade celular, tal como o tratamento com uma fração total polifenólica. (Babich, Ickow, Weisburg, Zuckerbraun, & Schuck, 2012; Seeram et al., 2006).

Já no cancro da próstata podemos verificar através dos dados da Tabela 5, que o cranberry teve efeito positivo na diminuição da viabilidade de várias linhas celulares. Mais especificamente, o extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos e a fração total polifenólica diminuíram a viabilidade das células 22Rv1 (Seeram et al., 2004a); nas células DU-145 a diminuição da viabilidade celular foi verificada através do tratamento com extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos e extrato de cranberry rico em PAC (MacLean et al., 2010; B. A. Déziel, Patel, Neto, Gottschall-Pass, & Hurta, 2010); Os três extratos mencionados tiveram ainda, a capacidade de diminuir a viabilidade celular das células RWPE-1 e RWPE-2. Nestas, o extrato rico em PAC mostrou ser o mais eficaz com uma concentração mínima inibitória de 6,5 µg/mL (Seeram et al., 2004a).

Relativamente ao cancro do estômago, as linhas celulares AGS e SGF-7901 sofreram uma diminuição da sua viabilidade quando expostas a um tratamento com extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos (M. Liu et al., 2009).

### ***Regulação do ciclo celular e diminuição da proliferação celular***

O extrato rico em PAC demonstrou diminuir a proliferação celular no cancro colo-retal (células SW620), do pulmão (células NCI-H322M) e dos ovários (SKOV-3), após tratamento com concentrações entre 25-125 µg/mL (Kim et al., 2011; Kresty et al., 2008).

No cancro do estômago a proliferação celular também foi inibida com concentrações de 10 mg/mL de extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos (M. Liu et al., 2009).

Relativamente ao ciclo celular das células cancerígenas, este foi retardado pelo extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos no cancro da mama, induzindo uma interrupção na fase G1 do ciclo das células MCF-7 (Sun & Liu, 2006). O mesmo se verificou nas células cancerígenas DU-145 da próstata (B. Déziel et al., 2012).

### ***Regulação do stress oxidativo***

Atualmente, sabe-se que o cancro está relacionado com a formação de radicais livres. As mutações que ocorrem a nível celular tem consequências nos danos causados no DNA pelos ROS. Assim, os constituintes de cranberry possuem um papel bastante importante por possuírem um enorme poder antioxidante (Martín, M; Ramos,S; Mateos,R; Marais, J; Bravo-Clemente,L ; Khoo,C; Goya, 2015).

O efeito quimiopreventivo dos constituintes do cranberry pode também ser explicado pelo poder de captação de ROS, diminuindo o *stress* oxidativo que é desenvolvido nas células cancerígenas (K. Weh et al., 2016).

O tratamento das células HepG2 com sumo de cranberry (25-50µg/mL) originou níveis de ROS bastante inferiores em comparação com células não induzidas a *stress* oxidativo (Martín et al., 2015; Xiangjiu; He & Liu, 2006).

### ***Regulação da inflamação e da adesão celular***

Após o tratamento com uma fração polifenólica total de cranberry (250µg/mL) das células do cancro colo-retal (Caco-2), verificou-se uma diminuição dos níveis dos marcadores pró-inflamatórios TNF-  $\alpha$  e IL-6. (Denis et al., 2015) Ocorreu também uma redução da expressão da ciclooxygenase-2 (COX-2), após tratamento extrato de

cranberry solúvel em compostos orgânicos, atenuando assim as respostas inflamatórias (Narayansingh & Hurta, 2009).

No cancro da próstata, o extrato de cranberry rico em PAC diminuiu a atividade das MMP-9, aumentando a expressão do inibidor da sua atividade (TIMP-2) e diminuindo a expressão do seu indutor. Desta forma, o cranberry impediu a migração das células DU-145. (B. A. Déziel et al., 2010).

Relativamente à adesão celular, o extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos provocou uma inibição da adesão das células cancerígenas orais (CAL27) de forma dependente da dose (Chatelain et al., 2011).

**Tabela 5** - Resumos dos estudos in vitro sobre o efeito do cranberry e dos seus constituintes em diferentes tipos de cancro. Adaptado de: (K. Weh et al., 2016) ANTO – Extrato rico em antocianinas; CSO – extrato de cranberry solúvel em compostos orgânicos; SC – sumo de cranberry; PAC-C – Extrato de cranberry rico em proantocianidinas; FRF – fração rica em flavonóides; Q – quercetina ; AU– ácido ursólico; FPT – Fração polifenólica total de cranberry.

Autores	Linhas celulares	Constituintes	Resultados
Cancro da mama			
(Sun & Liu, 2006)	MCF-7	CSO	Aumento da apoptose celular; Interrupção do ciclo celular (G1); Diminuição da viabilidade celular
(Seeram et al., 2006)		SC	Diminuição da viabilidade celular
(Kondo et al., 2011); (Brian T. Murphy et al., 2003)		PAC-C	Diminuição da densidade celular
(Boivin et al., 2007); (Ferguson et al., 2004)	MDA-MB-435	SC	Diminuição da viabilidade celular
(Ferguson et al., 2004)		FRF	Aumento da apoptose celular
Cancro Colo-retal			
(Boivin et al., 2007)	Caco-2	SC	Diminuição viabilidade celular
(Denis et al., 2015)		FPT	Diminuição dos marcadores pró-inflamatórios TNF- $\alpha$ e IL-6
(Seeram, Adams, Hardy, & Heber, 2004b)	HT-29	ANTO	Diminuição da viabilidade celular
(Seeram et al., 2004b)		PAC-C	Aumento da apoptose
(Narayansingh & Hurta, 2009)		CSO	Diminuição do marcador pró-inflamatório COX2
(Seeram et al., 2004b)	HCT116	CSO	Diminuição da viabilidade
(Kondo et al., 2011)		AU e PAC-C	Diminuição da densidade celular
(Kresty, Weh, Zeyzus-Johns, Perez, & Howell, 2015a)	SW620	PAC-C	Diminuição da proliferação celular
Cancro do Esófago			
(K. M. Weh, Aiyer, et al., 2016)	CP-C	PAC-C	Diminuição das espécies reativas de oxigénio
(Kresty et al., 2015a)(Kresty, Clarke, et al., 2011; K. M. Weh, Howell, & Kresty, 2016)	JHEsoAD1	PAC-C	Aumento da necrose em células resistentes a ácido; Diminuição da viabilidade celular
(Kresty, Weh, Zeyzus-Johns, Perez, & Howell, 2015b)	OE19		Aumento da necrose em células resistentes a ácido; Atraso na fase S do ciclo celular

**Tabela 5 (continuação)**

Autores	Linhas celulares	Constituintes	Resultados
Leucemia			
(Neto et al., 2006)(Kondo et al., 2011)	K562	PAC-C	Diminuição da densidade celular
(Kondo et al., 2011)	RPMI8226	AU	Diminuição da densidade celular
Cancro do Fígado			
(Martín et al., 2015)	HepG2	CSO	Diminuição da peroxidação dos lípidos; Diminuição das espécies reativas de oxigénio;
(Xiangjiu; He & Liu, 2006)		AU e Q	Diminuição da viabilidade celular
Cancro do Pulmão			
(Ferguson et al., 2004)	DMS114	FRF	Diminuição da viabilidade celular
(Kresty et al., 2008); (Kresty, Howell, & Baird, 2011)	NCI-H322M	PAC-C	Aumento da apoptose; Diminuição da viabilidade celular; Diminuição da proliferação celular.
Cancro da cavidade oral			
(Chatelain et al., 2011)	CAL27	CSO	Aumento da apoptose; Diminuição da adesão; Diminuição da densidade celular.
(Chatelain et al., 2011)(Seeram et al., 2006)(Babich et al., 2012)	KB	CSO e FPT	Diminuição da viabilidade celular
Cancro dos Ovários			
(Kim et al., 2011; Wang et al., 2015)	SKOV-3	PAC-C	Aumento da apoptose; Aumento das espécies reativas de oxigénio; Diminuição da proliferação e viabilidade celular.
Cancro da Próstata			
(Seeram et al., 2004a)	22Rv1	CSO e FPT	Diminuição da viabilidade celular
(B. Déziel et al., 2012)	DU-145	CSO	Interrupção da fase G1 do ciclo celular; Diminuição da viabilidade celular;
(MacLean et al., 2010);(B. A. Déziel et al., 2010)		PAC-C	Aumento da apoptose; Diminuição da atividade de metaloproteínases (MMP-9)
(Seeram et al., 2004a)	RWPE-1 e RWPE-2	CSO, PAC-C, FPT	Diminuição da viabilidade celular
Cancro do Estômago			
(M. Liu et al., 2009)	AGS e SGC-7901	CSO	Diminuição da viabilidade celular; Aumento da apoptose; Diminuição da proliferação celular

## **5.2 *in vivo***

Numa visão geral, os resultados obtidos *in vivo* vão de encontro com os resultados *in vitro*, apoiando que a administração de arando vermelho a longo prazo é bem tolerada e com efeitos positivos na inibição do cancro em modelos animais. Na Tabela 6 encontram-se descritos, de forma sucinta, os estudos analisados.

### ***Cancro da Bexiga***

O cancro da bexiga foi induzido em ratos fêmeas através da administração de nitrosamina, composto cancerígeno, duas vezes por semana durante oito semanas (Smilowitz et al., 2017). Após uma semana de terminada a exposição do carcinogénico, foi administrado ao grupo controlo um concentrado de sumo de cranberry durante 6 meses (0,5mL ou 1 mL). Ao grupo placebo administrou-se água. Após os 6 meses de tratamento observou-se uma redução de 31% do peso do tumor da bexiga. Estes resultados apoiam que o sumo de arando vermelho pode ser administrado por via oral durante um período de 6 meses sem apresentar toxicidade, em concentrações suportáveis e ainda inibir significativamente a progressão do cancro da bexiga (Prasain et al., 2008).

### ***Cancro Colo-retal***

De modo a investigar a capacidade do sumo de cranberry para inibir o cancro colo-retal realizou-se um estudo em ratos. O tratamento durou 15 semanas, sendo que na quarta e quinta semana administrou-se azoximetano para induzir o cancro a nível colo-retal. Verificou-se uma redução de 77% do cancro colo-retal (Boateng et al., 2007).

Para suportar estes resultados, um estudo realizado por Ferguson et al. utilizou linhas celulares cancerígenas (HT-29) para induzir carcinogénese em ratos. Uma fracção de cranberry rica em PAC (100mg/Kg) foi administrada duas a três vezes por semana durante 24 dias. Verificou-se uma inibição significativa dos tumores induzidos (Ferguson, Kurowska, Freeman, Chambers, & Koropatnick, 2006).

A colite induzida por dextrano é uma condição que está relacionada com um risco elevado de desenvolvimento de cancro colo-retal. Na terceira e sexta semanas de estudo, a água foi substituída por uma solução de sulfato de dextrano. Os ratos alimentados com cranberry apresentaram um nível de actividade cancerígena menor (fezes mais consistentes e menor índice de melenas) em comparação com o grupo placebo. Para além disto, os marcadores pró-inflamatórios TNF-  $\alpha$  e IL-1 $\beta$  foram diminuídos, o que sugere o efeito anti-inflamatório do sumo de cranberry *in vivo* (Xiao et al., 2015).

### ***Cancro do esófago***

Após cinco dias da indução cancerígena, os ratos deste estudo foram submetidos a um tratamento com PAC de cranberry (250 $\mu$ g) durante 19 dias. Constatou-se que o volume tumoral diminuiu em 67%, assim como a inflamação, comparando com o grupo placebo (Kresty et al., 2015b).

### ***Cancro da Próstata***

Uma linha celular do cancro da próstata, DU-145, foi implantada em ratos. Estes, após um tratamento com injeções de PAC de cranberry (200 $\mu$ g/Kg) a cada 2-3 dias, apresentaram uma regressão do crescimento do tumor (Ferguson et al., 2006).

**Tabela 6** - Estudos *in vivo* sobre o efeito do cranberry na inibição de diferentes tipos de cancro. Adaptado de: (K. Weh et al., 2016)

<b>Autores</b>	<b>Metodologia / Resultados</b>
<b>Cancro da Bexiga</b>	
(Prasain et al., 2008)	Tumores induzidos por nitrosamina em ratos fêmeas durante 8 semanas. Tratamento de 6 meses com sumo de cranberry: 0,1mL ou 0,5mL/dia. Redução de 31% no peso do tumor da bexiga e redução de 38% na formação de lesões cancerígenas.
<b>Cancro Colo-retal</b>	
(Boateng et al., 2007)	Induzido por Azoximetano em ratos. Tratamento com sumo de cranberry. Redução em 77% no adenocarcinoma.
(Ferguson et al., 2006)	Ratos fêmeas tratados com fração de cranberry rica em proantocianidinas (100mg/kg) 3x/semana durante 24 dias. Ocorreu uma inibição significativa em em comparação com o grupo controlo.
(Xiao et al., 2015)	Colite induzida por sulfato de dextrano em ratos. Após tratamento com cranberry durante 6 semanas notou-se uma normalização das fezes, diminuição do sangue em amostras fecais.
<b>Cancro do Esófago</b>	
(Kresty et al., 2015b)	Após tratamento com proantocianidinas de cranberry 6 dias/semanas durante 19 dias, ocorreu uma diminuição de 67% do volume tumoral em ratos.
<b>Cancro da Próstata</b>	
(Ferguson et al., 2006)	Tratamento com proantocianidinas de cranberry (injecção-100mg/Kg) a cada 2-3 dias. Ocorreu inibição significativa do crescimento do tumor.
<b>Cancro do Estômago</b>	
(M. Liu et al., 2009)	Pré-tratamento com extrato de cranberry em ratos. Após implementação das células SGC-790 verificou-se um aumento da latência tumoral e redução do tamanho do tumor de forma dependente da dose.



## Capítulo 6 - Cranberry e Infecções do Trato Urinário

Atualmente, as infecções do trato urinário (ITU) são infecções bacterianas bastante comuns, atingindo qualquer indivíduo independentemente do sexo e idade. Contudo, as mulheres são mais susceptíveis do que os homens. Estima-se que 20 a 30% das mulheres apresentam uma recorrência, isto é, pelo menos dois episódios em seis meses ou pelo menos três episódios em doze meses (Jensen, Struve, Christensen, & Krogfelt, 2017).

A anatomia feminina pode ser um fator explicativo desta maior prevalência em relação aos homens, visto que existem certos pormenores fisiológicos que favorecem o aparecimento deste tipo de infecções, tais como: possuírem a uretra mais curta e a bexiga maior, o que permite uma maior acumulação de urina por mais tempo; a grande proximidade da vagina e do ânus, que associada à elevada humidade local, favorece a colonização de microorganismos; e também devido à ausência de fluidos prostáticos, presentes no homem, que possuem propriedades bacteriostáticas. Uma vida sexual ativa, alterações hormonais, uso de certos contraceptivos (espermicidas) e alterações anatómicas (cálculos renais, por exemplo) representam outros fatores associados ao aumento da prevalência das ITU (Branco, 2011).

Como referido, o sexo feminino é o alvo maioritário deste tipo de infeção sendo que a incidência nas mulheres que se encontram na fase pós menopausa é significativamente maior devido a alterações hormais, como por exemplo, a diminuição dos níveis de estrogénio. Este atua na proliferação dos *Lactobacillus*, estimulando-a, assim como na redução do pH vaginal. Assim, as mulheres pós menopausa ao terem os níveis de estrogénio comprometidos estão mais propícias a desenvolver ITU de forma recorrente (Caretto, Giannini, Russo, & Simoncini, 2017). Por outro lado, a população pediátrica também é bastante afetada, sendo que no primeiro ano de vida as ITU são mais prevalentes no sexo masculino (Durham, Stamm, & Eiland, 2015).

As ITU são consequência da colonização de microorganismos na uretra (Uretrite), bexiga (Cistite) e rim (Pielonefrite). Estas infeções são acompanhadas de disúria e aumento da frequência das micções associado a uma diminuição do volume de urina (polaciúria ou polaquiúria). São causadas maioritariamente por bactérias que pertencem à família Enterobacteriaceae, sendo a *Escherichia coli* o principal agente etiológico.

Contudo, existem outros agentes relevantes, como *Enterococcus spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.* e *Klebsiella spp.* O método de diagnóstico mais usado é o exame à urina, em que a presença de leucócitos, nitritos e eritrócitos indica a existência de infeção. O recurso à uro-cultura, processo mais moroso, é muitas vezes necessário para que seja possível identificar o agente etiológico e selecionar a terapêutica antibiótica mais eficaz (Jensen et al., 2017).

Apesar da terapêutica antibiótica ter um papel fundamental no tratamento e prevenção destas infeções, o seu uso inadequado e descontrolado resulta no desenvolvimento de mecanismos de resistência por parte das bactérias a essa classe farmacológica, comprometendo assim a eficácia do tratamento e levando ao aparecimento de infeções recorrentes. Atualmente, as resistências microbianas têm um perfil de ascensão e são consideradas um problema de saúde pública mundial. Em Portugal, o consumo de antibióticos continua a ser elevado, pelo que é necessário adotar estratégias alternativas que minimizem este panorama (Loureiro, Roque, Teixeira Rodrigues, Herdeiro, & Ramalheira, 2016).

É neste sentido que as plantas medicinais têm sofrido uma série de estudos que comprovam a sua ação preventiva, recorrendo-se, assim, cada vez mais à Fitoterapia. O arando vermelho, como já referido, possui na sua composição taninos condensados. Mais especificamente, as proantocianidinas do tipo A são o principal composto presente nestas bagas que confere atividade anti-bacteriana, inibindo a adesão das bactérias uropatogénicas ao trato urinário. A colonização da *Escherichia coli* ao epitélio urinário é auxiliada por fatores de adesão, as fimbrias, que definem a sua virulência. Neste mecanismo estão envolvidas as fimbrias do tipo I (manose sensível) e tipo P (manose resistente). Estas últimas, apresentam-se nas ITU visto serem activadas pelos patogénicos uriários (Singh, Kumar, & Iqbal, 2016).

As PAC-A inibem irreversivelmente as fimbrias do tipo P da E.coli através de vários mecanismos: provocam alterações a nível da conformação da fimbria tipo P, fazendo com que percam a sua utilidade; por terem um comportamento análogo em relação ao recetores do epitélio, inibem competitivamente a sua ligação com as fimbrias tipo P; removem as fimbrias tipo P da superfície bacteriana e podem ainda, impedir a sua expressão. A adesão bacteriana é, desta forma, um alvo terapêutico bastante promitente (Y. Liu, Black, Caron, & Camesano, 2006).

Um modelo experimental recentemente realizado em ratos teve como objetivo comprovar a eficácia do sumo de cranberry, mais especificamente de alguns dos seus constituintes. Ao desenvolverem uma ITU, por inoculação via cateter de uma estirpe uropatogénica de *E.coli*, foram submetidos a um tratamento com sumo de cranberry comercializado e com a fração hidrofílica, constituída por frutose, glicose e ácidos orgânicos (ácido quinico, ácido málico, ácido cítrico e ácido chiquímico), sendo que as concentrações testadas foram equivalentes às presentes no sumo fresco de cranberry. Os resultados mostraram que as UFC foram diminuídas significativamente em comparação com o grupo placebo. Verificou-se também, que o pH da urina nos ratos que ingeriram o sumo de cranberry ou a mistura de ácidos orgânicos diminuiu (pH=5,8) em relação aos ratos que ingeriam água (pH=6,8). Concluiu-se que este tratamento apesar de positivo, não curou a infeção, indicando que este pode ser utilizado como medida preventiva ou em associação à terapêutica antibiótica. Apesar dos resultados serem positivos, é necessário investigar o efeito destes ácidos orgânicos presentes no arando vermelho em humanos, de forma a facilitar o desenvolvimento de uma bebida funcional que atue na prevenção destas infeções (Jensen et al., 2017).

Muitas vezes, são usados probióticos de forma a manter a homeostase do ecossistema vaginal. Existem variedades de microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, demonstram ser benéficos não só a nível do trato gastrointestinal como para além deste, envolvendo as ITU recorrentes. Desta forma, foi importante perceber qual o potencial *in vitro* de cinco espécies probióticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus asseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) em conjunto com as PAC-A extraídas do cranberry contra a invasão da *E.coli* extra intestinal. Os resultados mostraram que a capacidade das PAC-A em inibir a colonização da *E.coli* extra intestinal não foi comprometida pela componente probiótica. É evidente que são necessários estudo *in vivo* para comprovar estes resultados, contudo, este estudo contribuiu para evidenciar o potencial papel da combinação probiótica com o cranberry (Polewski, Krueger, Reed, & Leyer, 2016).

O efeito profilático de suplementos nutricionais de extrato de cranberry (contendo 60 mg de PAC-A) foi avaliado em indivíduos saudáveis com ITU recorrentes. Observou-se uma redução acentuada da adesão bacteriana de espécies uropatogénicas de *E.coli*, da

formação de biofilmes e ainda um decréscimo significativo de crescimento bacteriano em relação a um grupo placebo. O nível de piúria (presença de leucócitos na urina) e disúria também diminuiu (Singh et al., 2016).

Outro estudo envolvendo o mesmo tipo de suplementação, mas em jovens mulheres (idades compreendidas entre os 12 e os 18 anos) saudáveis e com história clínica de ITU recorrentes, mostrou ter resultados positivos relativamente ao efeito preventivo do arando vermelho. O número de ITU diminuiu significativamente ao longo do tratamento preventivo com esta suplementação oral (uma cápsula contendo 120 mg de extrato de cranberry, que correspondia a 36 mg de PAC-A), em relação aos dados reportados antes do início do estudo. Concluiu-se também que o extrato de cranberry foi bem tolerado ao longo dos 2 meses de estudo, sem serem evidenciados efeitos adversos (Ledda, Belcaro, Dugall, Riva, & Togni, 2017).

Um outro estudo multicêntrico randomizado e duplo-cego, mostrou que o consumo diário de um sumo comercializado de cranberry reduziu a incidência de ITU em mulheres saudáveis com história clínica recente das mesmas, em comparação com uma bebida placebo. Nos casos em que ocorreram episódios de ITU, o nível de piúria foi significativamente menor no grupo que ingeriu o sumo de cranberry (Maki et al., 2016).

A seguir à *E.coli*, o segundo agente etiológico mais comum de ITU são os *Enterococcus spp.*. A sua patogenicidade deve-se à capacidade de produzirem fatores de virulência, como enzimas e toxinas, das quais: lipase, lecitinase, gelatinase, DNase e hemolisina. Um estudo *in vitro* mostra que o extrato de cranberry inibe a síntese destes fatores de virulência, reduzindo a sobrevivência das estirpes uro-patogénicas de *Enterococcus faecalis*. As células bacterianas por possuírem um perfil hidrofóbico favorecem a formação de biofilmes, contudo, observou-se que ao estarem em contato com o extrato de cranberry passaram a ter um perfil hidrofílico, dificultando assim a formação dos mesmos. Desta forma, conclui-se que o extrato de cranberry, apesar de não eliminar totalmente os fatores de virulência produzidos por *Enterococcus faecalis*, pode ser utilizado como medida preventiva de ITU causadas pelas suas estirpes (Wojnicz, Tichaczek-goska, Korzekwa, Kicia, & Hendrich, 2016).

## Capítulo 7 - Conclusão

Após a realização desta revisão sobre a atividade biológica do cranberry, verificou-se a sua ação como antioxidante, anti-inflamatório, anticancerígeno e propriedades anti-adesão.

Relativamente às propriedades antioxidantes do arando vermelho, observou-se que os seus compostos possuem um enorme potencial na prevenção de doenças associadas ao *stress* oxidativo, como é o caso da síndrome metabólica e dos seus fatores e vários tipos de cancro. Nestes casos o efeito anti-inflamatório do arando também foi verificado, assim como a nível da saúde oral, mais especificamente na periodontite. Já a nível dos seus efeitos anti-adesão bacteriana verificou-se um efeito positivo na prevenção de cáries e infeções do trato urinário.

A síndrome metabólica está altamente relacionada com a obesidade e problemas cardiovasculares, sendo que para o seu diagnóstico há que ter em conta certos fatores de risco (aumento dos triglicéridos, do colesterol, da glicémia em jejum e da pressão arterial). Ao analisar vários estudos constatou-se que o cranberry interviu na produção excessiva de mediadores pró-inflamatórios (diminuiu dos níveis interleucinas associadas à inflamação do tecido adiposo, por exemplo) e de mediadores do *stress* oxidativo (diminuição de MDA e manutenção de NO). A manutenção dos níveis de NO observada permitiu concluir que o cranberry tem efeitos benéficos a nível do endotélio, melhorando o relaxamento muscular vascular e do músculo liso, prevenindo o desenvolvimento de aterosclerose. Mostrou também melhorar os níveis de LDL, HDL e triglicéridos, glicose pós-prandial e glicémia em jejum. Estes resultados mostram ser benéficos em indivíduos obesos e com diagnóstico de diabetes tipo 2. A nível da pressão arterial e da redução de peso, as diferenças não foram significativas.

A nível da saúde oral o cranberry, mais especificamente o extrato rico em PAC-A, mostrou ser eficaz na prevenção das doenças periodontais,. A formação de biofilmes por *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. denticola* foi inibida através da inativação dos fatores de virulência destes patogénicos com uma consequente diminuição da adesão bacteriana. O efeito anti-inflamatório também foi verificado, uma vez que marcadores pró-inflamatórios como MMP-9, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e MCP-1, foram diminuídos. Em

relação às caries dentárias, constatou-se que o cranberry atuou sobre os fatores de virulência de *S.mutans* e ainda interferiu com a sua hidrofobicidade, o que comprometeu a adesão deste patogénico.

Esta ação também foi verificada na prevenção de ITUs provocadas por *E.coli*. As fimbrias tipo P de *E.coli* são inibidas pelas PAC-A presentes no cranberry, conferindo uma diminuição da sua adesão. Em alguns casos o crescimento bacteriano também é afetado, assim como a formação de biofilmes. Os episódios de ITU em mulheres com história recorrente, foram diminuídos após o tratamento com suplementação à base de cranberry.

As propriedades anticancerígenas desta baga envolvem vários mecanismos de ação, sendo que pode atuar por diversas vias: afetando a viabilidade, a densidade, a proliferação, causando morte, interferindo com a cinética celular, com a adesão e migração das células cancerígenas, assim como diminuindo mediadores pró-inflamatórios e de *stress* oxidativo. Verificou-se, tanto *in vitro* como *in vivo*, que os diferentes compostos presentes no cranberry podem ser utilizados na prevenção de vários tipos de cancro, como o cancro esofágico, da prostata, da mama, colo-retal, do fígado, do pulmão, dos ovários e do estômago.

Deste modo, conclui-se que a atuação do *stress* oxidativo e da inflamação sobre estas patologias complementam-se, uma vez que o primeiro ativa vários fatores de transcrição que expressam citoquinas inflamatórias e moléculas reguladores do ciclo celular. O níveis constantes de *stress* oxidativo e de inflamação podem interferir com o equilíbrio homeostático, provocando danos teciduais. Desta forma, os efeitos do cranberry contra estas duas vias é uma arma potencial no combate de várias doenças.

Em suma, a utilização do arando vermelho como prevenção das patologias acima referidas é uma estratégias bastante promissora e em desenvolvimento. Contudo, é necessária uma análise mais focada sobre aspetos farmacocinéticos e farmacodinâmicos de modo conhecer em profundidade os seus mecanismos de ação, a dose recomendada e, apesar de não terem sido demonstrados, possíveis efeitos adversos e interações medicamentosas em humanos.

## Referências Bibliográficas

- Babich, H., Ickow, I. M., Weisburg, J. H., Zuckerbraun, H. L., & Schuck, A. G. (2012). Cranberry Juice Extract, A Mild Prooxidant with Cytotoxic Properties Independent of Reactive Oxygen Species. *Phytotherapy Research*, 26(9), 1358–1365. <https://doi.org/10.1002/ptr.3735>
- Barbalho, S. M., Bechara, M. D., Quesada, K., Gabaldi, M. R., De, R., Goulart, A., ... Gasparini, R. G. (n.d.). Síndrome metabólica, aterosclerose e inflamação: tríade indissociável? Metabolic syndrome, atherosclerosis and inflammation: an inseparable triad? *J Vasc Bras*. <https://doi.org/10.1590/1677-5449.04315>
- Basu, A., Betts, N. M., Ortiz, J., Simmons, B., Wu, M., & Lyons, T. J. (2011). Low-energy cranberry juice decreases lipid oxidation and increases plasma antioxidant capacity in women with metabolic syndrome. *Nutrition Research (New York, N.Y.)*, 31(3), 190–6. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.02.003>
- Basu, A., Betts, N. M., Ortiz, J., Simmons, B., Wu, M., & Lyons, T. J. (2012). NIH Public Access, 31(3), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.02.003>. Low-calorie
- Blaak, E. E., Antoine, J.-M., Benton, D., Björck, I., Bozzetto, L., Brouns, F., ... Vinoy, S. (2012). Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. *Obesity Reviews : An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 13(10), 923–84. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01011.x>
- Boateng, J., Verghese, M., Shackelford, L., Walker, L. T., Khatiwada, J., Ogutu, S., ... Chawan, C. B. (2007). Selected fruits reduce azoxymethane (AOM)-induced aberrant crypt foci (ACF) in Fisher 344 male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45(5), 725–732. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.10.019>
- Bodet, C. C., Piché, M., Chandad, F., & Grenier, D. (2006). Inhibition of periodontopathogen-derived proteolytic enzymes by a high-molecular-weight fraction isolated from cranberry. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(4), 685–690. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl031>
- Bodet, C., Grenier, D., Chandad, F., Ofek, I., Steinberg, D., & Weiss, E. I. (2008).

- Potential oral health benefits of cranberry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(7), 672–680. <https://doi.org/10.1080/10408390701636211>
- Boivin, D., Blanchette, M., Barrette, S., Moghrabi, A., & Béliveau, R. (2007). Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF-induced activation of NFκB by edible berry juice. *Anticancer Research*, 27(2), 937–948.
- Branco, C. (2011). pública Artigo original Etiologia e sensibilidade bacteriana em infecções do tracto urinário Francisco José Barbas Rodrigues a , \* e Ana Paula Dias Barroso b, 29(2), 123–131.
- Brian T. Murphy, †, Shawna L. MacKinnon, ‡, Xiaojun Yan, †,§, Gerald B. Hammond, †, Abraham J. Vaisberg, ‖ and, & Catherine C. Neto\*, †. (2003). Identification of Triterpene Hydroxycinnamates with in Vitro Antitumor Activity from Whole Cranberry Fruit (*Vaccinium macrocarpon*). <https://doi.org/10.1021/JF034114G>
- Caretto, M., Giannini, A., Russo, E., & Simoncini, T. (2017). Preventing urinary tract infections after menopause without antibiotics. *Maturitas*, 99, 43–46. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2017.02.004>
- Chatelain, K., Phippen, S., McCabe, J., Teeters, C. A., O'Malley, S., & Kingsley, K. (2011). Cranberry and grape seed extracts inhibit the proliferative phenotype of oral squamous cell carcinomas. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2011, 467691. <https://doi.org/10.1093/ecam/nen047>
- Denis, M.-C., Desjardins, Y., Furtos, A., Marcil, V., Dudonné, S., Montoudis, A., ... Levy, E. (2015). Prevention of oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction in the intestine by different cranberry phenolic fractions. *Clinical Science*, 128(3), 197–212. <https://doi.org/10.1042/CS20140210>
- Déziel, B. A., Patel, K., Neto, C., Gottschall-Pass, K., & Hurta, R. A. R. (2010). Proanthocyanidins from the American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) inhibit matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 activity in human prostate cancer cells via alterations in multiple cellular signalling pathways. *Journal of Cellular Biochemistry*, 111(3), 742–754. <https://doi.org/10.1002/jcb.22761>
- Déziel, B., MacPhee, J., Patel, K., Catalli, A., Kulka, M., Neto, C., ... Hurta, R. (2012). American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) extract affects human prostate cancer



- cell growth via cell cycle arrest by modulating expression of cell cycle regulators. *Food & Function*, 3(5), 556. <https://doi.org/10.1039/c2fo10145a>
- Dietrich, K., Ball, G. D. C., & Mitchell, L. G. (2016). Increased plasminogen activator inhibitor results in a hypofibrinolytic state in adolescents with obesity: *in vivo* and *ex vivo* evidence. *British Journal of Haematology*, 175(2), 300–307. <https://doi.org/10.1111/bjh.14238>
- Duffey, K. J., & Sutherland, L. A. (2015). Adult consumers of cranberry juice cocktail have lower C-reactive protein levels compared with nonconsumers. *Nutrition Research*, 35(2), 118–126. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2014.11.005>
- Durham, S. H., Stamm, P. L., & Eiland, L. S. (2015). Cranberry Products for the Prophylaxis of Urinary Tract Infections in Pediatric Patients. *Annals of Pharmacotherapy*, 49(12), 1349–1356. <https://doi.org/10.1177/1060028015606729>
- Feghali, K., Feldman, M., La, V. D., Santos, J., & Grenier, D. (2012). Cranberry proanthocyanidins: Natural weapons against periodontal diseases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5728–5735. <https://doi.org/10.1021/jf203304v>
- Feldman, M., & Grenier, D. (2012). Cranberry proanthocyanidins act in synergy with licochalcone A to reduce *Porphyromonas gingivalis* growth and virulence properties, and to suppress cytokine secretion by macrophages. *Journal of Applied Microbiology*, 113(2), 438–447. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05329.x>
- Ferguson, P. J., Kurowska, E., Freeman, D. J., Chambers, A. F., & Koropatnick, D. J. (2004). A flavonoid fraction from cranberry extract inhibits proliferation of human tumor cell lines. *The Journal of Nutrition*, 134(6), 1529–35. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15173424>
- Ferguson, P. J., Kurowska, E. M., Freeman, D. J., Chambers, A. F., & Koropatnick, J. (2006). In Vivo Inhibition of Growth of Human Tumor Lines by Flavonoid Fractions From Cranberry Extract. *Nutrition and Cancer*, 56(1), 86–94. [https://doi.org/10.1207/s15327914nc5601\\_12](https://doi.org/10.1207/s15327914nc5601_12)
- Ferreira, I. C. F. R., & Abreu, R. M. V. (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Bioanálise*, 2, 32–39. Disponível em:

[https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/2711/1/Publicação\\_Nacional\\_Sress\\_oxidativo.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/2711/1/Publicação_Nacional_Sress_oxidativo.pdf)

- Forssten, S. D., Björklund, M., & Ouwehand, A. C. (2010). Streptococcus mutans, caries and simulation models. *Nutrients*, 2(3), 290–8. <https://doi.org/10.3390/nu2030290>
- Francisqueti, F. V., Nascimento, A. F., Minatel, I. O., Dias, M. C., Luvizotto, R. de A. M., Berchieri-Ronchi, C., ... Corrêa, C. R. (2017). Metabolic syndrome and inflammation in adipose tissue occur at different times in animals submitted to a high-sugar/fat diet. *Journal of Nutritional Science*, 6, e41. <https://doi.org/10.1017/jns.2017.42>
- Gerits, E., Verstraeten, N., & Michiels, J. (2017). New approaches to combat Porphyromonas gingivalis biofilms. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1). <https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1300366>
- Gregoire, S., Singh, A. P., Vorsa, N., & Koo, H. (2007). Influence of cranberry phenolics on glucan synthesis by glucosyltransferases and Streptococcus mutans acidogenicity. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1960–1968. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03441.x>
- He, X., & Liu, R. H. (2006). Cranberry Phytochemicals: Isolation, Structure Elucidation, and Their Antiproliferative and Antioxidant Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7069–7074. <https://doi.org/10.1021/jf061058l>
- He, X., & Liu, R. H. (2006). Cranberry Phytochemicals: Isolation, Structure Elucidation, and Their Antiproliferative and Antioxidant Activities. <https://doi.org/10.1021/JF061058L>
- Health, H., Blumberg, J. B., Camesano, T. A., Cassidy, A., Kris-etherton, P., Howell, A., ... Vita, J. A. (2013). Cranberries and Their Bioactive Constituents. *Advances in Nutrition*, 4, 618–632. <https://doi.org/10.3945/an.113.004473>
- Jensen, H. D., Struve, C., Christensen, S. B., & Krogfelt, K. A. (2017). Cranberry juice and combinations of its organic acids are effective against experimental urinary tract infection. *Frontiers in Microbiology*, 8(APR), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00542>

- Kim, K., Singh, A. P., Singh, R. K., Demartino, A., Brard, L., Vorsa, N., ... Moore, R. G. (2011). Anti-angiogenic activity of cranberry proanthocyanidins and cytotoxic properties in ovarian cancer cells. *International Journal of Oncology*, 40(1), 227–35. <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.1198>
- Kondo, M., MacKinnon, S. L., Craft, C. C., Matchett, M. D., Hurta, R. A. R., & Neto, C. C. (2011). Ursolic acid and its esters: occurrence in cranberries and other *Vaccinium* fruit and effects on matrix metalloproteinase activity in DU145 prostate tumor cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5), 789–796. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4330>
- Koo, H., Duarte, S., Murata, R. M., Scott-Anne, K., Gregoire, S., Watson, G. E., ... Vorsa, N. (2010). Influence of cranberry proanthocyanidins on formation of biofilms by *Streptococcus mutans* on saliva-coated apatitic surface and on dental caries development in vivo. *Caries Research*, 44(2), 116–26. <https://doi.org/10.1159/000296306>
- Kowalska, K., & Olejnik, A. (2016a). Beneficial effects of cranberry in the prevention of obesity and related complications: Metabolic syndrome and diabetes - A review. *Journal of Functional Foods*, 20, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.11.001>
- Kowalska, K., & Olejnik, A. (2016b). Cranberries (*Oxycoccus quadripetalus*) inhibit pro-inflammatory cytokine and chemokine expression in 3T3-L1 adipocytes. *Food Chemistry*, 196, 1137–1143. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.069>
- Kresty, L. A., Clarke, J., Ezell, K., Exum, A., Howell, A. B., & Guettouche, T. (2011). MicroRNA alterations in Barrett's esophagus, esophageal adenocarcinoma, and esophageal adenocarcinoma cell lines following cranberry extract treatment: Insights for chemoprevention. *Journal of Carcinogenesis*, 10, 34. <https://doi.org/10.4103/1477-3163.91110>
- Kresty, L. A., Howell, A. B., & Baird, M. (2008). Cranberry Proanthocyanidins Induce Apoptosis and Inhibit Acid-Induced Proliferation of Human Esophageal Adenocarcinoma Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 676–680. <https://doi.org/10.1021/jf071997t>
- Kresty, L. A., Howell, A. B., & Baird, M. (2011). Cranberry Proanthocyanidins Mediate

- Growth Arrest of Lung Cancer Cells through Modulation of Gene Expression and Rapid Induction of Apoptosis. *Molecules*, 16(12), 2375–2390. <https://doi.org/10.3390/molecules16032375>
- Kresty, L. A., Weh, K. M., Zeyzus-Johns, B., Perez, L. N., & Howell, A. B. (2015a). Cranberry proanthocyanidins inhibit esophageal adenocarcinoma in vitro and in vivo through pleiotropic cell death induction and PI3K/AKT/mTOR inactivation. *Oncotarget*, 6(32), 33438–55. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5586>
- Kresty, L. A., Weh, K. M., Zeyzus-Johns, B., Perez, L. N., & Howell, A. B. (2015b). Cranberry proanthocyanidins inhibit esophageal adenocarcinoma in vitro and in vivo through pleiotropic cell death induction and PI3K/AKT/mTOR inactivation. *Oncotarget*, 6(32), 33438–55. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5586>
- Ledda, A., Belcaro, G., Dugall, M., Riva, A., & Togni, S. (2017). Highly standardized cranberry extract supplementation ( Anthocran ® ) as prophylaxis in young healthy subjects with recurrent urinary tract infections. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 389–393.
- Liu, M., Lin, L.-Q., Song, B.-B., Wang, L.-F., Zhang, C.-P., Zhao, J.-L., & Liu, J.-R. (2009). Cranberry Phytochemical Extract Inhibits SGC-7901 Cell Growth and Human Tumor Xenografts in Balb/c nu / nu Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 762–768. <https://doi.org/10.1021/jf802780k>
- Liu, Y., Black, M. A., Caron, L., & Camesano, T. A. (2006). Role of cranberry juice on molecular-scale surface characteristics and adhesion behavior of Escherichia coli. *Biotechnology and Bioengineering*, 93(2), 297–305. <https://doi.org/10.1002/bit.20675>
- Lombardo Bedran, T. B., Palomari Spolidorio, D., & Grenier, D. (2015). Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate and cranberry proanthocyanidins act in synergy with cathelicidin (LL-37) to reduce the LPS-induced inflammatory response in a three-dimensional co-culture model of gingival epithelial cells and fibroblasts. *Archives of Oral Biology*, 60(6), 845–853. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.02.021>
- Loureiro, R. J., Roque, F., Teixeira Rodrigues, A., Herdeiro, M. T., & Ramalheira, E.

- (2016). O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de Saude Publica*, 34(1), 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.rpsp.2015.11.003>
- MacLean, M., Scott, B., Deziel, B., Nunnelley, M., Liberty, A., Gottschall-Pass, K., ... Hurta, R. (2010). North American Cranberry (*Vaccinium Macrocarpon*) Stimulates Apoptotic Pathways in DU145 Human Prostate Cancer Cells In Vitro. *Nutrition and Cancer*, 63(1), 1–1. <https://doi.org/10.1080/01635581.2010.516876>
- Maki, K. C., Kaspar, K. L., Khoo, C., Derrig, L. H., Schild, A. L., & Gupta, K. (2016). Consumption of a cranberry juice beverage lowered the number of clinical urinary tract infection episodes in women with a recent history of urinary tract infection. *American Journal of Clinical Nutrition*, 103(6), 1434–1442. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.130542>
- Martín, M; Ramos,S; Mateos,R; Marais, J; Bravo-Clemente,L ; Khoo,C; Goya, L. (2015). Chemical characterization and chemo-protective activity of cranberry phenolic powders in a model cell culture. Response of the antioxidant defenses and regulation of signaling pathways. *Food Research International*, 71, 68–82. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2015.02.022>
- Martín, M. A., Ramos, S., Mateos, R., Marais, J. P. J., Bravo-Clemente, L., Khoo, C., & Goya, L. (2015). Chemical characterization and chemo-protective activity of cranberry phenolic powders in a model cell culture. Response of the antioxidant defenses and regulation of signaling pathways. *Food Research International*, 71, 68–82. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.02.022>
- Mathew, H., Castracane, V. D., & Mantzoros, C. (2017). Adipose Tissue and Reproductive Health. *Metabolism*. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.006>
- Narayansingh, R., & Hurta, R. A. (2009). Cranberry extract and quercetin modulate the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and IκBα in human colon cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(3), 542–547. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3471>
- Neto, C. C., Krueger, C. G., Lamoureaux, T. L., Kondo, M., Vaisberg, A. J., Hurta, R. A. R., ... Reed, J. D. (2006). MALDI-TOF MS characterization of proanthocyanidins

- from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 18–25. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2347>
- Novotny, J. A., Baer, D. J., Khoo, C., Gebauer, S. K., & Charron, C. S. (2015). Cranberry Juice Consumption Lowers Markers of Cardiometabolic Risk, Including Blood Pressure and Circulating C-Reactive Protein, Triglyceride, and Glucose Concentrations in Adults. *Journal of Nutrition*, 145(6), 1185–1193. <https://doi.org/10.3945/jn.114.203190>
- Oszmiański, J., Wojdyło, A., Lachowicz, S., Gorzelany, J., & Matłok, N. (2016). Comparison of bioactive potential of cranberry fruit and fruit-based products versus leaves. *Journal of Functional Foods*, 22, 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.01.015>
- Oszmiański, J., Kolniak-Ostek, J., Lachowicz, S., Gorzelany, J., & Matłok, N. (2015). Effect of dried powder preparation process on polyphenolic content and antioxidant capacity of cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.). *Industrial Crops and Products*, 77, 658–665. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.054>
- Overall, J., Bonney, S., Wilson, M., Beermann, A., Grace, M., Esposito, D., ... Komarnytsky, S. (2017). Metabolic Effects of Berries with Structurally Diverse Anthocyanins. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 422. <https://doi.org/10.3390/ijms18020422>
- Panee, J. (2012). Monocyte Chemoattractant Protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes. *Cytokine*, 60(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.06.018>
- Pappas, E., & Schaich, K. M. (2009). Phytochemicals of cranberries and cranberry products: Characterization, potential health effects, and processing stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(9), 741–781. <https://doi.org/10.1080/10408390802145377>
- Pardo-Mates, N., Vera, A., Barbosa, S., Hidalgo-Serrano, M., Núñez, O., Saurina, J., ... Puignou, L. (2017). Characterization, classification and authentication of fruit-based extracts by means of HPLC-UV chromatographic fingerprints, polyphenolic profiles and chemometric methods. *Food Chemistry*, 221, 29–38.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.033>

- Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M. L., Vigna-Pérez, M., & Hernández-Pérez, T. (2010). Berries: Improving Human Health and Healthy Aging, and Promoting Quality Life-A Review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 299–308. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0177-1>
- Polashock, J., Zelzion, E., Fajardo, D., Zalapa, J., Georgi, L., Bhattacharya, D., & Vorsa, N. (2014). The American cranberry: first insights into the whole genome of a species adapted to bog habitat. *BMC Plant Biology*, 14(1), 165. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-14-165>
- Polewski, M. A., Krueger, C. G., Reed, J. D., & Leyer, G. (2016). Ability of cranberry proanthocyanidins in combination with a probiotic formulation to inhibit in vitro invasion of gut epithelial cells by extra-intestinal pathogenic E. coli. *Journal of Functional Foods*, 25, 123–134. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.05.015>
- Prasain, J. K., Jones, K., Moore, R., Barnes, S., Leahy, M., Roderick, R., ... Grubbs, C. J. (2008). Effect of cranberry juice concentrate on chemically-induced urinary bladder cancers. *Oncology Reports*, 19(6), 1565–70. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18497966>
- Sancho, R. A. S., & Pastore, G. M. (2012). Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. *Food Research International*, 46(1), 378–386. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.11.021>
- Schell, J., Betts, N. M., Foster, M., Scofield, R. H., & Basu, A. (2017). Cranberries improve postprandial glucose excursions in type 2 diabetes. *Food and Function*, 8(9). <https://doi.org/10.1039/c7fo00900c>
- Seeram, N. P., Adams, L. S., Hardy, M. L., & Heber, D. (2004a). Total Cranberry Extract versus Its Phytochemical Constituents: Antiproliferative and Synergistic Effects against Human Tumor Cell Lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2512–2517. <https://doi.org/10.1021/jf0352778>
- Seeram, N. P., Adams, L. S., Hardy, M. L., & Heber, D. (2004b). Total Cranberry Extract versus Its Phytochemical Constituents: Antiproliferative and Synergistic Effects against Human Tumor Cell Lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,

52(9), 2512–2517. <https://doi.org/10.1021/jf0352778>

- Seeram, N. P., Adams, L. S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H. S., & Heber, D. (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(25), 9329–9339. <https://doi.org/10.1021/jf061750g>
- Sethi, R., & Govila, V. (2011). Inhibitory effect of cranberry juice on the colonization of Streptococci species: An in vitro study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(1), 46–50. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.82271>
- Simão, T. N. C., Lozovoy, M. A. B., Simão, A. N. C., Oliveira, S. R., Venturini, D., Morimoto, H. K., ... Dichi, I. (2013). Reduced-energy cranberry juice increases folic acid and adiponectin and reduces homocysteine and oxidative stress in patients with the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition*, 110(10), 1885–1894. <https://doi.org/10.1017/S0007114513001207>
- Singh, I., Kumar, L., & Iqbal, G. (2016). Effect of oral cranberry extract ( standardized proanthocyanidin - A ) in patients with recurrent UTI by pathogenic E . coli : a randomized placebo - controlled clinical research study. *International Urology and Nephrology*. <https://doi.org/10.1007/s11255-016-1342-8>
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 24673–24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Smart, M. C., Dedoussis, G., Yiannakouris, N., Grisoni, M. L., Dror, G. K., Yannakoulia, M., ... EARSII Consortium, on behalf of the E. (2011). Genetic variation within IL18 is associated with insulin levels, insulin resistance and postprandial measures. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, 21(7), 476–84. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.12.004>
- Smilowitz, H., Tarmu, L., Sanders, M., Taylor III, J., Choudhary, D., Xue, C., ... Hainfeld, J. (2017). Biodistribution of gold nanoparticles in BBN-induced muscle-invasive bladder cancer in mice. *International Journal of Nanomedicine, Volume 12*,



- 7937–7946. <https://doi.org/10.2147/IJN.S140977>
- Sun, J., & Liu, R. (2006). Cranberry phytochemical extracts induce cell cycle arrest and apoptosis in human MCF-7 breast cancer cells. *Cancer Letters*, 241(1), 124–134. <https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2005.10.027>
- Szajdek, A., & Borowska, E. J. (2008). Bioactive compounds and health-promoting properties of Berry fruits: A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63(4), 147–153. <https://doi.org/10.1007/s11130-008-0097-5>
- Tada, H., Matsuyama, T., Nishioka, T., Hagiwara, M., Kiyoura, Y., Shimauchi, H., & Matsushita, K. (2016). Porphyromonas gingivalis gingipain-dependently enhances IL-33 production in human gingival epithelial cells. *PLoS ONE*, 11(4), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152794>
- Tipton, D. A., Hatten, A. A., Babu, J. P., & Dabbous, M. K. (2016). Effect of glycated albumin and cranberry components on interleukin-6 and matrix metalloproteinase-3 production by human gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal Research*, 51(2), 228–236. <https://doi.org/10.1111/jre.12302>
- Van Dyke, T. E. (2017). Pro-resolving mediators in the regulation of periodontal disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 58, 21–36. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.04.006>
- Vendrame, S., Del Bo', C., Ciappellano, S., Riso, P., & Klimis-Zacas, D. (2016). Berry Fruit Consumption and Metabolic Syndrome. *Antioxidants*, 5(4), 34. <https://doi.org/10.3390/antiox5040034>
- Wade, W. G. (2013). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacological Research*, 69(1), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>
- Wang, Y., Han, A., Chen, E., Singh, R. K., Chichester, C. O., Moore, R. G., ... Vorsa, N. (2015). The cranberry flavonoids PAC DP-9 and quercetin aglycone induce cytotoxicity and cell cycle arrest and increase cisplatin sensitivity in ovarian cancer cells. *International Journal of Oncology*, 46(5), 1924–34. <https://doi.org/10.3892/ijo.2015.2931>
- Weh, K., Clarke, J., & Kresty, L. (2016). Cranberries and Cancer: An Update of

- Preclinical Studies Evaluating the Cancer Inhibitory Potential of Cranberry and Cranberry Derived Constituents. *Antioxidants*, 5(3), 27. <https://doi.org/10.3390/antiox5030027>
- Weh, K. M., Aiyer, H. S., Howell, A. B., & Kresty, L. A. (2016). Cranberry proanthocyanidins modulate reactive oxygen species in Barrett’s and esophageal adenocarcinoma cell lines. *Journal of Berry Research*, 6(2), 125–136. <https://doi.org/10.3233/JBR-160122>
- Weh, K. M., Howell, A. B., & Kresty, L. A. (2016). Expression, modulation, and clinical correlates of the autophagy protein Beclin-1 in esophageal adenocarcinoma. *Molecular Carcinogenesis*, 55(11), 1876–1885. <https://doi.org/10.1002/mc.22432>
- Wojnicz, D., Tichaczek-goska, D., Korzekwa, K., Kicia, M., & Hendrich, A. B. (2016). Study of the impact of cranberry extract on the virulence factors and biofilm formation by *Enterococcus faecalis* strains isolated from urinary tract infections, 7486(July). <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1211996>
- Xiao, X., Kim, J., Sun, Q., Kim, D., Park, C.-S., Lu, T.-S., & Park, Y. (2015). Preventive effects of cranberry products on experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. *Food Chemistry*, 167, 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.006>
- Yoo, S., Murata, R. M., & Duarte, S. (2011). Antimicrobial traits of tea- and cranberry-derived polyphenols against *Streptococcus mutans*. *Caries Research*, 45(4), 327–35. <https://doi.org/10.1159/000329181>
- Yu, X., Gong, Z., Lin, Q., Wang, W., Liu, S., & Li, S. (2017). Denervation effectively aggravates rat experimental periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, (April), 1011–1020. <https://doi.org/10.1111/jre.12472>
- Yung, L. M., Tian, X. Y., Wong, W. T., Leung, F. P., Yung, L. H., Chen, Z. Y., ... Huang, Y. (2013). Chronic cranberry juice consumption restores cholesterol profiles and improves endothelial function in ovariectomized rats. *European Journal of Nutrition*, 52(3), 1145–1155. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0425-2>